

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**  
**Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas**

**Renata Vitoriano Corradi Gomes**

**CONCENTRAÇÃO DE ANGIOTENSINAS E ATIVIDADES DA ECA E  
ECA 2 CIRCULANTES DE PACIENTES EM HEMODIÁLISE**

**Teófilo Otoni**

**2018**



**Renata Vitoriano Corradi Gomes**

**CONCENTRAÇÃO DE ANGIOTENSINAS E ATIVIDADES DA ECA E  
ECA 2 CIRCULANTES DE PACIENTES EM HEMODIÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Linha de Pesquisa: Sistema Renina Angiotensina

Orientador: Prof. Dr. Patrick Wander Endlich

**Teófilo Otoni**

**2018**

Ficha Catalográfica  
Preparada pelo Serviço de Biblioteca da UFVJM  
Bibliotecário responsável: Raniere Barros Barreto – CRB6 nº ES000861/O

G633c    Gomes, Renata Vitoriano Corradi.  
2018       Concentração de Angiotensinas e atividades da ECA e ECA 2  
             circulantes de pacientes em hemodiálise. / Renata Vitoriano Corradi  
             Gomes, 2018.

81 p. ; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal dos Vales do  
Jequitinhonha e Mucuri. Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em  
Ciências Fisiológicas, 2018.

Orientador: Prof. Dr. Patrick Wander Endlich.

1. Doença Renal Crônica. 2. Hemodiálise. 3. Sistema Renina  
Angiotensina. 4. ECA. 5. Angiotensina I. I. Título.

**CDD: 616**

RENATA VITORIANO CORRADI GOMES

**Concentração de Angiotensinas e Atividades da ECA e ECA 2  
Circulantes de Pacientes em Hemodiálise**

Dissertação apresentada ao  
MESTRADO EM CIÊNCIAS  
FISIOLÓGICAS, nível de MESTRADO  
como parte dos requisitos para  
obtenção do título de MESTRE EM  
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

Orientador (a): Prof. Dr. Patrick  
Wander Endlich

Data da aprovação : 27/11/2018



Prof.Dr. PATRICK WANDER ENDLICH - UFVJM

Prof.Dr. DANIEL CAMPOS VILLELA - UFVJM



Prof.Dr.ª SONIA ALVES GOUVEIA - UFES

DIAMANTINA



*“Dizem que a vida é para quem sabe viver, mas ninguém nasce pronto. A vida é para quem é corajoso o suficiente para se arriscar e humilde o bastante para aprender.”*

(Clarice Lispector)





## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela minha vida e por minha saúde.

À minha família (meus pais: Ilze e Roberto; minhas irmãs: Marcela e Rafaela; meu marido: Thiago e meus filhos: João Pedro e Camila) pelo incentivo e apoio incondicionais.

Ao meu orientador, Professor Dr. Patrick Wander Endlich, por toda a paciência e empenho. Muito obrigada por me ensinar a importância dos “*detalhes*” e por ter me corrigido sempre que necessário sem nunca me desmotivar. Levarei comigo todas as lições que aprendi com você.

À Faculdade de Medicina do Mucuri (FAMMUC), minha inspiração em busca do aprimoramento e à toda a comunidade acadêmica, em especial às servidoras técnico-administrativas: Rosalina Alves Prates Soares Cruz, Simony Langkamer Silveira e Layde Dyana Sierau e aos Professores Dr. João Victor Leite Dias e Dr. Alexandre Augusto de Assis Dutra. Muito obrigada por toda a assistência e disponibilidade de vocês. Aos alunos da medicina, Henrique Taliuli, Luísa Beatriz G. de Paula e em especial, Gabriela Varejão, por toda a cooperação de vocês durante a realização do nosso trabalho. Vocês foram fundamentais. À minha amiga Márcia Lisboa Lisboa por todos os conselhos e orientações.

Ao coordenador local do Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Marco Fabrício Dias Peixoto, e à ex-coordenadora, Etel Vieira, pela assessoria, assistência e colaboração.

Aos parceiros: Professora Dra. Dulce Casarini, Professor Robson Santos, Cyntia Cabral, Dra. Fernanda Ronchi, Dra. Lílian Caroline Gonçalves de Oliveira. Esta dissertação não teria sido concluída sem o apoio de vocês.

A toda a equipe do Hospital Philadélfia, em destaque à Hemodiálise, e ao Laboratório. Vocês foram imprescindíveis na execução deste trabalho. Aos colegas, Dra. Márcia Ramalho, Dra. Letícia Guedes e Dr. Vinícius Chalub, que sempre estiveram disponíveis para me substituírem na assistência aos nossos pacientes. Muito obrigada. Por fim, aos meus pacientes, que me motivam diariamente na busca de novos avanços no tratamento da doença renal. Muito obrigada.



## RESUMO

**Introdução** - A Doença Cardiovascular (DCV) é a principal causa de morte entre os pacientes portadores de Doença Renal Crônica Terminal (DRCT) em Hemodiálise (HD). A desregulação do Sistema Renina Angiotensina (SRA) exerce significativa influência na progressão da DCV e renal.

**Objetivo** - Analisar o efeito da sessão de hemodiálise sobre os componentes do SRA dos pacientes DRCT e estudar a repercussão dos fármacos sobre esse sistema.

**Métodos** - Este estudo caracterizado como observacional analítico transversal, avaliou 87 pacientes DRCT em hemodiálise. Os participantes do estudo tiveram o sangue coletado imediatamente antes e após a primeira sessão de hemodiálise da semana, no qual realizamos a análise da atividade das enzimas, ECA e ECA 2, por método fluorimétrico e da concentração plasmática de angiotensinas, Angiotensina I, Angiotensina II e Angiotensina-(1-7), por meio da espectrometria LC-MS/MS. Também realizamos essas mesmas análises dividindo os pacientes em grupos conforme os fármacos utilizados, a saber: Controle- (sem anti-hipertensivos), Beta-bloqueador, Beta-bloqueador+iECA e Beta-bloqueador+Bloq.AT1.

**Resultados** – Encontramos aumento da atividade da ECA no período pós-dialítico. Quando estratificamos nossos pacientes de acordo com os fármacos utilizados, observamos que ocorreu diminuição na atividade da ECA nos grupos Beta-bloqueador, Beta-bloqueador +iECA e Beta-bloqueador+Bloq.AT1. Em relação a ECA2, nossos resultados mostraram diminuição de atividade no período pós-dialítico. Após estratificação de acordo com os fármacos utilizados, observamos redução apenas no grupo Beta-bloq+ Bloq. AT1. Em relação às angiotensinas, não observamos diferenças na concentração plasmática de Ang I e Ang-(1-7). No entanto, ocorreu diminuição nos níveis plasmáticos de Ang II no período pós-dialítico. Ao analisarmos os diferentes grupos, evidenciamos diminuição nos níveis plasmáticos de Angiotensina II nos grupos Beta-bloqueador+iECA e Beta-bloqueador+Bloq.AT1.

**Conclusões** - Demonstramos que a hemodiálise interfere no SRA dos pacientes DRCT, aumentando a atividade da ECA e diminuindo a atividade da ECA2 e a concentração plasmática da Ang II. E ainda, que o uso de fármacos Beta-bloqueadores, inibidores da ECA e Bloqueadores do Receptor AT1 estão associados com alterações significativas dos componentes deste sistema, dentre as quais, destacamos diminuição na atividade da ECA em pacientes em uso de Beta-bloqueador associado ao iECA e aumento na atividade da ECA 2 naqueles em uso de Beta-bloqueador associado a Bloqueador do Receptor AT1. Considerando

a clínica, nosso estudo abre uma lacuna para discussão de possíveis mudanças de conduta relacionadas à terapia medicamentosa como, por exemplo, horário de administração dos fármacos, suplementação de dose após sessão de hemodiálise, que podem beneficiar os pacientes DRCT, minimizando o impacto da doença e eficientizando o tratamento. Por fim, enquanto perspectivas futuras, nosso estudo inicia o entendimento da modulação da hemodiálise e terapia farmacológica sobre o SRA em pacientes portadores de DRCT.

**Descritores:** Doença Renal Crônica; Doença Renal Crônica Terminal; Hemodiálise; Sistema Renina Angiotensina; ECA; ECA2; Angiotensina I; Angiotensina II; Angiotensina-(1-7).

## ABSTRACT

**Introduction** - Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of death among patients with End Stage Renal Disease (ESRD) on hemodialysis. Deregulation of Renin Angiotensin System (RAS) exerts a significant influence on the progression of CVD and renal.

**Objective** - To analyze the effect of the hemodialysis session on the components of the RAS of the ESRD patients and to study the repercussion of the drugs on this system.

**Methods** - This cross-sectional observational study evaluated 87 patients on hemodialysis. The study participants had blood collected immediately before and after the first session of hemodialysis of the week, in which we performed the analysis of enzyme activity, ACE and ACE 2, by fluorimetric method and the plasma concentration of angiotensins, Angiotensin I, Angiotensin II and Angiotensin- (1-7), by means of LC-MS / MS spectrometry. We also performed these same analyzes by dividing the patients into groups according to the drugs used, namely: Control- (without antihypertensives), Beta-blocker, Beta-blocker + ACEI and Beta-blocker + Bloq.AT1.

**Results** - We found an increase in ACE activity in the post-dialytic period. When we stratified our patients according to the drugs used, we observed a decrease in ACE activity in the beta-blocker groups, Beta-blocker + ACEi and Beta-blocker. According to ACE2, our results showed a decrease in activity in the post-dialytic period. After stratification according to the drugs used, we observed reduction only in the group Beta-block + Block. AT1. Regarding angiotensins, we did not observe differences in the plasma concentration of Ang I and Ang- (1-7). However, there was a decrease in plasma levels of Ang II in the post-dialytic period. When analyzing the different groups, we showed a decrease in plasma levels of Angiotensin II in the beta-blocker + iACE groups, and Beta-blocker + Block. AT1.

**Conclusion** - We demonstrated that hemodialysis interferes in the RAS of the ESRD patients, increasing the ACE activity and decreasing the activity of ACE2 and the plasma concentration of Ang II. Furthermore, the use of Beta-blockers, ACE inhibitors and AT1 Receptor Blockers is associated with significant alterations in the components of this system, among which, we highlight a decrease in ACE activity in patients using Beta-blocker associated with ACE inhibitors and increased ACE 2 activity in patients receiving Beta-blocker associated with AT1 Receptor Blocker. Considering the clinic, our study opens a gap for discussion of possible changes in conduct related to drug therapy, such as schedule of drug administration, dose supplementation after hemodialysis session, which may benefit the ESRD patients, minimizing the impact of the disease and efficient treatment. Finally, as future perspectives,

our study begins the understanding of modulation of hemodialysis and pharmacological therapy on RAS in patients with ESRD.

**Keywords:** Chronic Renal Disease; End-stage Renal Disease; Haemodialysis; Renin Angiotensin System; ECA; ECA2; Angiotensin I; Angiotensin II; Angiotensin- (1-7).

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### FIGURAS

Figura 1 – Representação do Sistema Renina-Angiotensina (eixo clássico).....	25
Figura 2 – Representação do Sistema Renina-Angiotensina (eixo alternativo).....	26
Figura 3 – Recrutamento e divisão dos pacientes selecionados entre os grupos conforme os fármacos utilizados.....	40
Figura 4 – Análise da atividade da ECA Pré-HD e Pós-HD nos pacientes estudados.....	46
Figura 5 – Análise da atividade da ECA 2 Pré-HD e Pós-HD nos pacientes estudados.....	47
Figura 6 – Análise da concentração plasmática de Ang I nos períodos Pré-HD e Pós-HD nos pacientes estudados.....	48
Figura 7 – Análise da concentração plasmática de Ang II nos períodos Pré-HD e Pós-HD nos pacientes estudados.....	49
Figura 8 – Análise da concentração plasmática de Ang-(1-7) nos períodos Pré-HD e Pós-HD nos pacientes estudados.....	49
Figura 9 – Análise da concentração plasmática de Ang I nos períodos Pré-HD e Pós-HD.....	54
Figura 10 – Comparação da concentração plasmática de Ang I entre os grupos estudados....	55
Figura 11 – Análise da concentração plasmática de Ang II nos períodos Pré-HD e Pós-HD.	56
Figura 12 – Comparação da concentração plasmática de Ang II entre os grupos estudados...	57
Figura 13 – Análise da concentração plasmática de Ang-(1-7) nos períodos Pré-HD e Pós-HD.....	58
Figura 14 – Comparação da concentração plasmática de Ang-(1-7) entre os grupos estudados.....	59





## **TABELAS**

Tabela 1 – Classificação da Doença Renal Crônica.....	24
Tabela 2 – Características clínicas e bioquímicas dos pacientes estudados.....	45
Tabela 3 – Atividade da ECA circulante Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT dos grupos estudados.....	50
Tabela 4 – Comparação da atividade da ECA circulante entre os Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD.....	51
Tabela 5 – Atividade da ECA 2 circulante Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT dos grupos estudados.....	52
Tabela 6 – Comparação da atividade da ECA 2 circulante entre os Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD.....	53



## LISTA DE SIGLAS

AEBSF: 4-benzenossulfonito

Ang I: Angiotensina I

Ang II: Angiotensina II

Ang-(1-7): Angiotensina-(1-7)

Ang-(1-9): Angiotensina-(1-9)

AGT: Angiotensinogênio

ANOVA: Análise de Variância

AT1: Receptor de Angiotensina II tipo AT1

AT2: Receptor de Angiotensina II tipo AT2

AVC: Acidente Vascular Cerebral

Beta-bloq: Bloqueador do receptor  $\beta$  adrenérgico

Bloq. Recep. AT1: Bloqueador do receptor AT1

BRA: Bloqueador do Receptor de Angiotensina II

DCV: Doenças Cardiovasculares

DM: Diabetes Mellitus

DRC: Doença Renal Crônica

DRCT: Doença Renal Crônica Terminal

ECA: Enzima Conversora de Angiotensina

ECA2: Enzima Conversora de Angiotensina 2

EDTA: Ácido etilenodiamino

HCl: Ácido Clorídrico

HD: Hemodiálise

iECA: Inibidores da ECA

IRA: Injúria Renal Aguda

LC-MS/MS: Espectrômetro de Massa triplo quadrupolo acoplado a Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC)

NaCl: Cloreto de sódio

NEP: Endopeptidase neutra

PEP: Prolil-endopeptidase

Pré-HD: antes da sessão de hemodiálise

Pós-HD: após sessão de hemodiálise

RAC: Relação Albuminúria Creatininúria

SRA: Sistema Renina-Angiotensina

SM: Sem medicamentos anti-hipertensivos

TFG: Taxa de Filtração Glomerular

TRS: Terapia Renal Substitutiva

UPLC: Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>23</b>
	<b>2.1 Doença Renal Crônica .....</b>	<b>23</b>
	<b>2.2 Sistema Renina-Angiotensina .....</b>	<b>24</b>
	2.2.1 Renina .....	26
	2.2.2 Angiotensinogênio .....	27
	2.2.3 Enzima Conversora de Angiotensina I.....	27
	2.2.4 Enzima Conversora de Angiotensina II .....	27
	2.2.5 Angiotensinas.....	28
	<b>2.3 O SRA nos pacientes DRCT em Hemodiálise .....</b>	<b>29</b>
	<b>2.4 Os Fármacos que interferem no SRA .....</b>	<b>30</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>35</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>37</b>
	<b>4.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>37</b>
	<b>4.2 Objetivos Específicos .....</b>	<b>37</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>39</b>
	<b>5.1 Aspectos éticos.....</b>	<b>39</b>
	<b>5.2 Amostra .....</b>	<b>39</b>
	<b>5.3 Critérios de Inclusão.....</b>	<b>39</b>
	<b>5.4 Critérios de Exclusão.....</b>	<b>39</b>
	<b>5.5 Coleta e estocagem das amostras.....</b>	<b>41</b>
	<b>5.6 Parâmetros Bioquímicos .....</b>	<b>41</b>
	5.6.1 Determinação das atividades enzimáticas da ECA e ECA2 .....	41
	5.6.2 Determinação da atividade enzimática da ECA.....	42
	5.6.3 Determinação da atividade enzimática da ECA2.....	42
	5.6.4 Determinação da concentração plasmáticas das angiotensinas .....	43

5.7	Análise Estatística .....	43
6	RESULTADOS .....	45
6.1	Características da Amostra .....	45
6.2	Atividade da ECA Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT em HD .....	46
6.3	Atividade da ECA2 Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT em HD .....	47
6.4	Concentração Plasmática da Ang I Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT em HD.....	47
6.5	Concentração Plasmática da Ang II Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT em HD .....	48
6.6	Concentração Plasmática da Ang-(1-7) Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT em HD.....	49
6.7	Atividade da ECA no Período Pré-HD e Pós-HD nos Grupos Estudados .....	50
6.8	Comparação da Atividade da ECA entre os Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD.....	51
6.9	Atividade da ECA2 no Período Pré-HD e Pós-HD nos Grupos Estudados .....	52
6.10	Comparação da Atividade da ECA 2 entre os Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD.....	53
6.11	Concentração Plasmática de Ang I nos Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT .....	54
6.12	Comparação da Concentração Plasmática de Ang I entre os Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD.....	55
6.13	Concentração Plasmática de Ang II nos Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD.....	56
6.14	Comparação da Concentração Plasmática de Ang II entre os Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD.....	57
6.15	Concentração Plasmática de Ang-(1-7) nps Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD.....	58
6.16	Comparação das Concentrações Plasmáticas de Ang-(1-7) entre os Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD .....	59

<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	61
7.1	Características clínicas e bioquímicas	61
7.2	Atividade da ECA	61
7.3	Atividade da ECA2	64
7.4	Concentração Plasmática das Angiotensinas	66
7.4.1	Angiotensina I	66
7.4.2	Angiotensina II	67
7.4.3	Angiotensina-(1-7)	68
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	69
<b>9</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	71
	<b>ANEXO</b>	83





## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com o guia de prática clínica da Fundação Nacional do Rim, (National Kidney Foundation's Kidney, 2002, tradução nossa), a Doença Renal Crônica (DRC) é definida como anormalidade da estrutura e/ ou função dos rins ou redução da taxa de filtração glomerular (TGF) para níveis inferiores a  $60\text{ml/min/1.73m}^2$  presentes por mais de 3 meses consecutivos, com implicação para a saúde do indivíduo (K/DOQI, 2002; KDIGO, 2013). Dados da literatura mostram que a DRC representa um problema de saúde global e atinge 8-16% da população adulta mundial (JHA et al., 2013). Dentre as implicações dessa doença, podemos citar a redução progressiva da função renal, levando ao estágio terminal denominado Doença Renal Crônica Terminal (DRCT). Pacientes DRCT necessitam de algum tipo de Terapia Renal Substitutiva (TRS), tais como, hemodiálise, diálise peritoneal e transplante renal (KDIGO, 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

O Artigo “Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2016”, (SOCIEDADE, 2017) mostrou que houve um aumento na incidência e prevalência de pacientes em hemodiálise em relação aos anos anteriores e ainda que tem aumentado desde 2012.

Elevada mortalidade foi observada em pacientes portadores de DRCT em HD quando comparados à população geral; sendo a doença cardiovascular (DCV), a maior comorbidade associada e a principal causa de morte (ORTIZ A et al. 2014; ROBERTS MA, 2011). Os mecanismos que contribuem para a patogênese da doença cardiovascular na DRC são complexos e múltiplos. Esses mecanismos incluem fatores de risco tradicionais e não tradicionais, tais como, retenção de sódio e água, hiperatividade do sistema nervoso simpático, calcificação vascular, estresse oxidativo e ativação do sistema renina-angiotensina (SRA) (ROBERTS MA et al, 2006; SUZUKI et al., 2009; BUCHARLES et al., 2010). A elevação da ECA provoca o aumento nos níveis de Angiotensina II circulante que promove a progressão das DCV por meio da vasoconstrição e proliferação celular. Adicionalmente, a ativação simpática via Angiotensina II (Ang II) promove aumento dos níveis pressóricos, com adicionais efeitos deletérios sobre os sistemas renal e cardiovascular (ROBERTS MA et al. 2006). A maior parte dos estudos publicados, até o momento, evidencia aumento da atividade da ECA nos pacientes DRCT em hemodiálise (PATEL, ANSARI, 1979; SILVERSTEIN et al., 1984, MIURA, NAKAYAMA, 1984; KOO et al., 1987) e mostram que o uso de medicamentos que bloqueiam o SRA tem grande impacto sobre o sistema cardiovascular, sendo efetivo no tratamento de várias doenças, tais quais, hipertensão, insuficiência cardíaca,

infarto agudo do miocárdio e nefropatia diabética (LENFANT C et al., 2003; JAMES et al, 2014; SICA et al. 2003).

Apesar do uso dos bloqueadores do SRA nos pacientes em hemodiálise ser umas das intervenções farmacológicas mais utilizadas, o benefício clínico nesse grupo de pacientes não está totalmente esclarecido e os dados disponíveis na literatura são conflitantes. Alguns trabalhos associam o uso destes medicamentos à redução de mortalidade e de risco de eventos cardiovasculares (TAKAHASHI et al., 2006; SUZUKI, 2009). Em contraposição, outros demonstram ausência de benefício cardiovascular (ZANNAD et al., 2006; TAI et al., 2010; ISEKI et al., 2013) ou ainda aumento da mortalidade (AGARWAL et al. 2014; SHIREMAN et al., 2016). Dessa forma, a repercussão do SRA em pacientes DRCT em hemodiálise assim como os efeitos dos medicamentos bloqueadores sobre este sistema permanece pouco conhecido. O entendimento do comportamento do SRA e o efeito dos fármacos bloqueadores nos pacientes portadores de DRCT em hemodiálise pode auxiliar o desenvolvimento de melhores estratégias de tratamentos medicamentosos nesta população, com perspectiva de reduzir a progressão das doenças cardiovasculares e melhorar a sobrevida.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Doença Renal Crônica

Conforme as Diretrizes Clínicas para o Cuidado ao Paciente com Doença Renal Crônica – Ministério da Saúde 2014, o rim é um órgão com diversas funções: excreção de produtos finais do metabolismo, produção de hormônios, manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico e ácido-básico e controle da pressão arterial. Em geral, todas as funções exercidas pelos rins costumam diminuir paralelamente à redução da sua função excretora (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Neste sentido, a função excretora renal pode ser avaliada por meio da Taxa de Filtração Glomerular (TFG), procedimento importante, visto que existe correlação entre os desfechos clínicos do paciente. Por esse motivo, conhecer a capacidade de excreção dos rins torna-se imprescindível para o diagnóstico, monitoramento e controle de doenças.

Para o diagnóstico da DRC podemos utilizar 2 parâmetros distintos: a redução da TFG ou a evidência de dano renal, avaliada por meio de exames laboratoriais bioquímicos e/ou exames de imagem. Dessa forma, define-se portador de DRC qualquer indivíduo que, independente da causa, apresente por pelo menos três meses consecutivos uma  $TFG < 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$ . Nos casos de pacientes com  $TFG \geq 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$ , considerar DRC se associada a pelo menos um marcador de dano renal parenquimatoso (Albuminúria  $> 30 \text{ mg/24 horas}$  ou Relação Albuminúria Creatininúria (RAC)  $> 30 \text{ mg/g}$ , Hematúria de origem glomerular, definida pela presença de cilindros hemáticos ou dismorfismo eritrocitário no exame de urina) ou alteração no exame de imagem (rins policísticos, hidronefrose, cicatrizes corticais ou alterações da textura cortical, sinais de doença infiltrativa e estenose da artéria renal) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Conforme preconizado pela Iniciativa de Qualidade em Resultados de Insuficiência Renal da Fundação Nacional do Rim, (National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative, 2002, tradução nossa), uma vez diagnosticada, a DRC deve ser classificada, conforme a tabela 1. A classificação da doença em estágios permite melhor estruturação do tratamento dos pacientes, bem como sua avaliação prognóstica. No estágio final da doença, também conhecido por estágio 5 ou DRCT os pacientes necessitam submeter-se a terapias de substituição renal como hemodiálise, diálise peritoneal ou transplante renal, para se manterem vivos (KDIGO, 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; K/DOQI, 2002).

Tabela 1- Classificação da Doença Renal Crônica

Estágio da DRC	TFG(mL/min/1,73m <sup>2</sup> )
1	≥ 90
2	60 – 89
3	30 – 59
4	15 – 29
5	< 15

Fonte: NKF-KDOQI™ com modificações. DRC: doença renal crônica. TGF: taxa de filtração glomerular.

## 2.2 Sistema Renina-Angiotensina

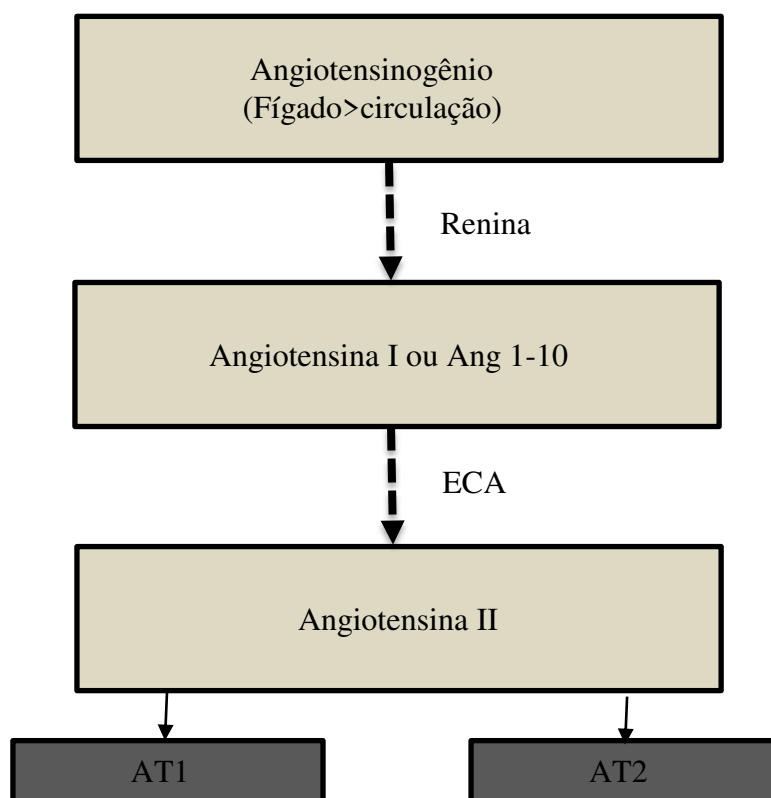
O Sistema Renina-Angiotensina (SRA) caracteriza-se como um importante sistema hormonal no controle da pressão arterial e do volume intravascular. Desde a descoberta da renina por Robert Tigersted e Per Bergman em 1898 (PHILLIPS; SCHMIDT-OTT, 1999), novas moléculas e vários mecanismos fisiológicos foram identificados, levando ao melhor entendimento acerca dos mecanismos regulatórios envolvidos no SRA, permitindo a compreensão do seu papel em condições fisiológicas e fisiopatológicas.

O SRA é composto por diferentes reguladores e efetores. Destaca-se a ação da Ang II, um potente vasoconstritor responsável também pelo controle da excreção renal de sódio (NEVES; CAMPOS, 2007).

A via clássica de ativação deste sistema está bem elucidada sendo composta pelo eixo ECA/Ang II/AT 1. Nesta via, estímulos como redução da pressão de perfusão renal, ativação nervosa simpática renal e redução da concentração de sódio no líquido tubular (VON LUTTEROTI et al., 1994), promovem a secreção da enzima proteolítica renina (produzida e armazenada nos rins), que no plasma realiza a clivagem do angiotensinogênio (AGT) em angiotensina I (Ang I). Por conseguinte, a Ang I será catalisada pela ECA em Ang II, um hormônio que exerce seus efeitos biológicos ao atuar em diferentes tipos de receptores de angiotensinas (AT), sendo o receptor de Ang II do tipo 1 (AT1), o principal mediador das funções fisiológicas conhecidas, tais como elevação da pressão arterial, aumento da reabsorção renal de sódio, estimulação da secreção de aldosterona e promoção de efeitos tróficos celulares em diversos tecidos (NEVES; CAMPOS, 2007).

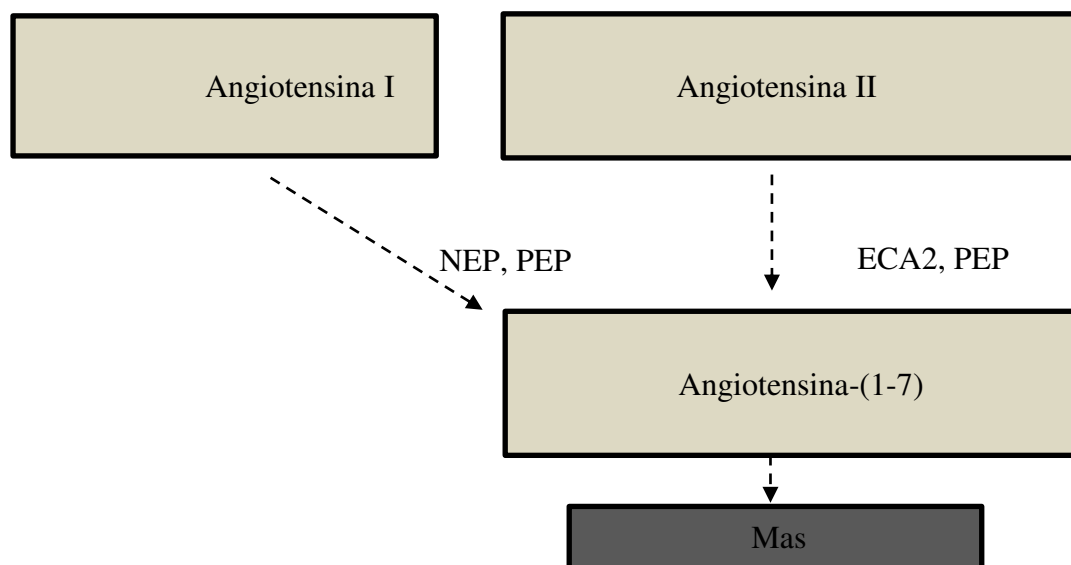
Nos últimos anos, com a evolução da biotecnologia foram identificados novos componentes do SRA, tais como ECA2, Ang-(1-7) e o receptor *Mas* (VICKERS et al., 2002), que em conjunto constituem um eixo alternativo ECA2/Ang-(1-7) /*Mas*, com ações antagônicas às do eixo clássico (CHAPPEL, 2012; FERRARIO, 2011). Além disso, as crescentes descobertas sinalizaram que o SRA não é exclusivamente intravascular como se acreditava no passado, mostrando que a biossíntese de angiotensinas pode ocorrer fora da circulação sistêmica, ou seja, por uma via tecidual, já identificada em coração, vasos sanguíneos, rim, cérebro, adrenal, hipófise, tecido adiposo, testículos, ovários e pele (CAREY et al., 2003).

Figura1 – Representação do Sistema Renina-Angiotensina (eixo clássico)



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 2 – Representação do Sistema Renina-Angiotensina (eixo alternativo)



Fonte: Elaborado pela autora.

### 2.2.1 Renina

A renina é uma aspartil protease sintetizada principalmente pelas células justaglomerulares responsável pela clivagem da ligação leu-val da região aminoterminal do AGT, formando a Ang I. O gene responsável pela codificação da renina está localizado no cromossoma 1 e codifica uma proteína precursora, pré-pró-renina, que é rapidamente clivada formando a pró-renina (REUDELHUBER; CATANZARO, 2009); sendo essa, armazenada nos grânulos das células justaglomerulares, onde é convertida em renina e secretada na circulação em resposta a determinados estímulos, tais como a redução da pressão de perfusão renal, ativação nervosa simpática renal e redução da concentração de sódio no líquido tubular (VON LUTTEROTI et al., 1994). Diferentemente da renina, a pró renina pode ser sintetizada por tecidos extra renais, tais quais: adrenal, ovários, testículos, placenta e retina (HSUEH; BAXTER, 1991). Entretanto, apesar de sua atividade funcional ter sido comprovada com a identificação de sua ligação aos receptores manose 6-fosfato (M6P/IGF2R) e ao receptor de pró-renina e renina (P)RR, seu papel fisiológico e fisiopatológico em seres humanos permanece inconclusivo (ZHUO et al., 2013; CAMPBELL, 2008). Nesse sentido, a despeito dos níveis plasmáticos da pró-renina serem 10% maiores, esta proteína apresenta atividade menor que 2%, quando comparada à renina (CAMPBELL, 2008).

### 2.2.2 Angiotensinogênio

O AGT humano é uma glicoproteína globular, de peso molecular variável (52 a 60.000 Daltons) e representa o substrato específico da renina humana. A catálise do angiotensinogênio pela renina forma a Ang I (MORGAN et al., 1996).

### 2.2.3 Enzima Conversora de Angiotensina I

Dentre as várias enzimas do Sistema Renina-Angiotensina, destaca-se a ECA, como uma dispeptidil carboxipeptidase (enzima que remove 2 resíduos de aminoácidos C-terminais) não específica que além de hidrolisar o decapeptídeo Ang I no octapeptídeo Ang II, também inativa a bradicinina e outros substratos peptídicos (CORVOL et al., 1995). Esta enzima transmembranosa, apresenta seu sítio ativo no domínio extracelular, possuindo dois sítios catalíticos, N-terminal e C-terminal, ambos capazes de catalisar a Ang I. Podemos encontrar essa enzima em vários tipos celulares (células endoteliais, epiteliais com borda em escova e neuroepiteliais) e também sendo expressada em tecidos como rim, coração, cérebro e vasos pulmonares (CORVOL et al., 1995).

### 2.2.4 Enzima Conversora de Angiotensina II

No ano de 2000, a descoberta da ECA 2, uma enzima homóloga à ECA, possibilitou melhor compreensão do SRA (DONOGHUE et al. 2000).

A ECA 2 é uma proteína integral de membrana, encontrada na maioria dos tecidos, sobretudo nos rins, endotélio e coração (PATEL et al., 2013). Apesar de homóloga à ECA, esta carboxipeptidase resulta na formação de Ang-(1-7), responsável por exercer efeitos opostos aos da Ang II (BURRELL et al., 2000).

A ECA 2 pode clivar a Ang I e formar a Angiotensina 1-9 [Ang-(1-9)] (DONOGHUE et al., 2000) que é subsequentemente convertida em Ang-(1-7) pela ECA; Contudo, seu principal substrato é a Ang II, que pode ser convertida em Ang-(1-7). Além disso, ela não degrada a bradicinina (VICKERS et al., 2002). Dessa forma, esta enzima exerce papel fundamental no balanço dos mediadores do SRA, uma vez que ela catalisa a conversão da Ang II, um peptídeo com ação vasoconstritora, em Ang-(1-7), um peptídeo com ação vasodilatadora. Importante ressaltar que outras enzimas podem contribuir com a formação da

Ang-(1-7) tais como a prolil-endorpeptidase (PEP) e a endopeptidase neutra (NEP) (SANTOS; CAMPAGNOLE-SANTOS; ANDRADE, 2000).

Estudos experimentais sugerem que a expressão da ECA 2 tecidual pode ser um importante determinante de doenças cardíacas e renais (TIKELLIS et al., 2008; BURRELL et al., 2004). No coração a ausência da ECA 2 está associada a prejuízo na função cardíaca (CRACKOWER et al., 2002) e, no rim, a deleção ou inibição da ECA 2 resulta em piora da injúria renal. Esses dados indicam que a ECA 2 tem efeitos nefroprotetores, provavelmente por promover a degradação da Ang II (YE et al., 2006; SOLER et al., 2007; OUDIT et al., 2006). Como se trata de uma proteína integral de membrana poderia ocorrer a liberação de seu domínio catalítico na circulação (LAMBERT et al., 2005).

Até o momento, estudos em humanos que relacionam a atividade de ECA 2 circulante a condições patológicas são escassos. Sabemos que os níveis circulantes de ECA 2 são muito baixos quando comparados aos níveis circulantes de ECA (LEW et al, 2006), no entanto, o significado desta condição permanece inconclusivo. Lew et al.(2008) demonstraram que a ECA2 está presente no plasma humano, mas sua atividade é suprimida pela presença de inibidores endógenos em voluntários saudáveis. Contrariamente Soro-Paavonen A et al. (2012) observaram níveis aumentados em portadores de DM tipo 1 com complicações vasculares. Nesse sentido, Roberts et al.(2013), reportaram atividade plasmática da ECA 2 reduzida em pacientes DRCT em hemodiálise comparados a portadores de DRCT não dialíticos.

#### 2.2.5 Angiotensinas

A Ang II é o principal hormônio biologicamente ativo do SRA, tendo como efeitos principais o aumento dos níveis pressóricos por meio do aumento da resistência vascular periférica, a estimulação do sistema nervoso simpático e a estimulação da secreção de vasopressina (DE GASPARO et al., 2000). Além disso, ela aumenta a reabsorção de sódio e água por ação direta nas células dos túbulos renais e indiretamente, estimulando secreção de aldosterona e vasopressina (KIM; IWAQ, 2000). As ações biológicas da Ang II são exercidas quando esse hormônio se liga aos receptores AT1 e AT2. Desta forma, a ativação de receptores AT1 estimula vasoconstrição, hipertrofia e hiperplasia do músculo liso da parede vascular, retenção de sódio, indução da resposta inflamatória, trombótica e fibrótica (DE GASPARO et al., 2000). Por outro lado, a estimulação dos receptores AT2, antagoniza os



efeitos dos receptores AT1 ao inibir o crescimento celular e induzir à apoptose e vasodilatação (DE GASPARO et al., 2000).

O hormônio do eixo vasodilatador, Ang-(1-7), caracteriza-se como um heptapeptídeo que pode ser convertido em Angiotensina-(1-5) (um peptídeo inativo), por meio da ação da ECA (CHAPPEL et al., 1998). A Ang-(1-7) pode ser encontrada na circulação e em alguns tecidos, incluindo coração e rins (ZIMMERMAN; BURNS, 2012). Cabe ressaltar, que a concentração desta angiotensina nos rins foi relativamente elevada quando comparada à Ang II (PINHEIRO; SIMÕES E SILVA, 2012). Além da ação vasodilatadora, a Ang-(1-7) estimula a natriurese, possui efeito antiproliferativo (SANTOS; FERREIRA; SIMOES, 2008) e potencializa a ação vasodilatadora da bradicinina, via estimulação da síntese endotelial de óxido nítrico (SAMPAIO et al., 2007); sendo suas ações biológicas exercidas por meio da ligação com o receptor *Mas*, acoplado à proteína G (SANTOS et al., 2003).

### **2.3 O SRA nos pacientes DRCT em Hemodiálise**

Os pacientes DRCT em hemodiálise possuem elevada mortalidade comparados à população geral, sendo a doença cardiovascular a maior comorbidade associada e a principal causa de morte nessa população (ORTIZ et al. 2014 ROBERTS et al. 2011). Um dos mecanismos propostos para explicar a patogênese da doença cardiovascular na DRC inclui a ativação do SRA (SUZUKI, 2009). Ademais, sabemos que este sistema hormonal exerce influência na progressão das doenças cardiovasculares e renais (MIZUIRI, OKASHI, 2015; ROBERTS et al.2006). E ainda, que a progressão da doença renal nos pacientes em hemodiálise, demonstrada pela perda progressiva da função renal residual está associada ao aumento da mortalidade (SHEMIN, 2001).

Neste sentido, a ECA e a ECA2 são as principais enzimas envolvidas na formação dos componentes deste sistema, exercendo funções contra-regulatórias, respectivamente, por meio da produção de Ang II e Ang-(1-7). Assim, conhecer a atividade dessas enzimas nos permite compreender o funcionamento e o balanço do SRA, assim como a sua relação com a gênese e progressão de doenças.

Desde o início da década de 80, muitos estudos avaliaram o SRA em pacientes DRCT em hemodiálise. A maior parte destes estudos aponta para a hiperatividade do SRA nesta população, evidenciada pelo aumento da atividade da ECA circulante (PATEL; ANSARI; 1979; MIURA et al. 1984; SILVERSTEIN et al., 1984; NIELSEN; KNUDSEN;

KRISTENSEN, 1985; KOO et al., 1987) e diminuição da atividade da ECA2 circulante (ROBERTS et al. 2013; ANGUIANO et al., 2015; CHUNG-WEI et al., 2017).

A hiperatividade do SRA está envolvida na fisiopatologia da hipertensão arterial (LARAGH, 2001), um dos principais contribuintes para a mortalidade e doença cardiovascular na DRC (AGARWAL; SINHA, 2009; HEERSPINK et al., 2009).

Nessa perspectiva, vários autores estudaram o uso de bloqueadores do SRA e seus efeitos sobre a morbimortalidade entre os renais crônicos dialíticos. Lopes AA et al. (2009) evidenciaram que o uso de medicamentos que bloqueiam o SRA diminui a progressão da doença renal crônica. Similarmente, Itoh Y et al.(2012), demonstraram que o bloqueio do SRA em pacientes em hemodiálise poderia preservar a TFG. De outro modo, Kjaergaard et al. (2014), não encontraram evidências de benefício no declínio da TFG de pacientes em hemodiálise em uso de irbesartan, comparados a placebo. Takahashi et al.(2006) demonstraram que o uso de BRA foi benéfico em reduzir eventos cardiovasculares quando comparado a placebo. Nesse sentido, Suzuki et al. (2008) mostraram redução de 49% no risco de morte por causas cardiovasculares quando comparados pacientes em uso de iECA ou BRA com pacientes que não utilizavam medicamentos dessas mesmas classes. De outro modo, meta-análise incluindo os estudos citados acima evidenciou que o uso iECA ou BRA não foi associado a redução de risco de eventos cardiovasculares futuros (TAI et al. 2010). Entretanto, outras meta-análises, tem evidenciado que o uso de iECA ou BRA tem sido associado a significativa redução do índice de massa do ventrículo esquerdo (TAI et al. 2010; YANG et al., 2013), importante preditor de risco cardiovascular. Diante do exposto, podemos observar que os efeitos do bloqueio do SRA em pacientes em hemodiálise, carecem de mais esclarecimentos.

## **2.4 Os Fármacos que interferem no SRA**

Neste tópico iremos reportar o efeito dos fármacos sobre componentes específicos do SRA ou que apresentam efeito indireto sobre o mesmo.

### **Inibidores da ECA (iECA)**

O primeiro iECA disponível para uso clínico foi o captopril, apresentado ao mercado em 1974 (CUSHMAN et al., 1977). Este fármaco diminui os níveis de Ang II circulante e prolonga a meia vida da bradicinina (SOUBRIER et al., 1993). Os principais efeitos adversos desta classe de medicamentos incluem: hipercalemia, tosse e angioedema

(SICA et al. 2003). As propriedades farmacocinéticas variam entre os diversos fármacos. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1999), o captopril é rapidamente absorvido por via oral, atingindo o pico da concentração sanguínea em cerca de 1 hora. Mais de 95% da dose absorvida é eliminada na urina, sendo 40 a 50% como droga inalterada e o restante como metabólitos (dímero dissulfeto do captopril e dissulfeto captopril-cisteína). Assim, o comprometimento renal pode resultar em acúmulo da droga. O enalapril também é rapidamente absorvido por via oral, atingindo concentrações máximas plasmáticas em 3 a 4 horas. Sua principal via de excreção também é renal. A cinética intradialítica dos iECA difere entre os medicamentos, sendo a maioria deles removidos durante a sessão de hemodiálise, exceto o fosinopril, fármaco não dializável (LEVIN et al, 2010; INRIG, 2010).

Zannad et al. (2006) avaliou o uso do fosinopril *versus* placebo em 397 pacientes em hemodiálise com hipertrofia do ventrículo esquerdo. O autor não observou diferença na incidência dos eventos cardiovasculares entre os grupos. Entretanto, Suzuki et al. (2008) mostraram redução de 49% no risco de morte por causas cardiovasculares em pacientes hipertensos em hemodiálise em uso de iECA ou BRA. Importante ressaltar que estes medicamentos tem sido prescritos nos casos de hipertensão arterial sistêmica, insuficiência cardíaca, infarto agudo do miocárdio, nefropatia diabética e disfunção ventricular esquerda (SICA et al.2003, GIATRAS; LAU; LEVEY, 1977; NAVIS et al. 1988).

### **Bloqueadores dos Receptores da Angiotensina II Tipo AT1 (BRA)**

Os BRA são fármacos que antagonizam seletivamente os receptores AT1, impedindo algumas das ações biológicas da Ang II envolvidas na fisiopatologia da hipertensão, tais como a vasoconstrição e liberação de aldosterona (INRIG, 2010). Um dos antagonistas do receptor de Ang II (AT1) mais utilizados na prática clínica é a losartana. Segundo a ANVISA. (1999), este medicamento é bem absorvido por via oral, atingindo concentrações plasmáticas máximas em 1 hora. Sua excreção ocorre por via biliar, principalmente, e por via urinária, sendo que 4% da dose são excretadas inalteradas na urina e 6%, na forma de metabólito ativo. Em relação à cinética intradialítica, os BRA são fármacos não dialisáveis (LEVIN et al, 2010).

Takahashi et al.(2006), avaliou o uso de candesartan *versus* placebo em 80 pacientes em hemodiálise e reportou benefício cardiovascular no grupo candesartan. Assim como estudo citado anteriormente, que avaliou uso de iECA e BRA. De forma contrária, Iseki et al. (2013) avaliaram 469 pacientes hipertensos em hemodiálise em uso de olmesartan e não reportaram diferença na incidência de eventos cardiovasculares comparados aos pacientes que

não utilizaram bloqueadores do SRA. Similarmente aos iECA, os BRA têm sido indicados nos casos de hipertensão arterial sistêmica, insuficiência cardíaca, nefropatia diabética e disfunção ventricular esquerda (WEBER al., 2003).

### **Beta-bloqueadores**

A secreção da renina ocorre em resposta a determinados estímulos, dentre eles a ativação nervosa simpática renal, que ocorre por meio da estimulação dos receptores beta-adrenérgicos  $\beta_1$  (VON LUTTEROTI et al., 1994). Desta forma, o uso de antagonistas destes receptores, interfere no SRA, reduzindo a secreção da renina pelas células justaglomerulares (LARAGH, 1977).

A DRC apresenta um estado de hiperatividade do sistema nervoso simpático, comprovada por meio de trabalhos que avaliaram a atividade nervosa de pacientes DRCT em hemodiálise utilizando microneurografia no nervo sural (KLEIN et al. 2001; HAUSBERG et al., 2002). Conquanto, a hiperatividade simpática mostrou-se associada ao aumento da mortalidade cardiovascular nos pacientes em hemodiálise (VONEND; RUMP; RITZ, 2008). A vulnerabilidade dos pacientes em hemodiálise em apresentar arritmias e morte súbita associadas a hiperatividade do sistema nervoso simpático, fazem dos beta-bloqueadores uma opção terapêutica para promover cardioproteção (FURGESSON; CHONCHOL, 2008; AGARWAL et al., 2014).

Em relação às propriedades farmacocinéticas, os beta-bloqueadores são extremamente variáveis. Dentre os medicamentos mais utilizados podemos citar o atenolol, o propranolol, o carvedilol e o metoprolol. Os beta-bloqueadores hidrossolúveis, como o atenolol, são absorvidos pelo trato gastrointestinal, sendo pouco ou nada metabolizados e eliminados sob forma inalterada na urina. De forma contrária, os fármacos lipossolúveis, como o propranolol e metoprolol, são absorvidos quase completamente pelo trato digestivo, são metabolizados no fígado, dando origem algumas vezes a metabólitos ativos, como o propranolol. O conhecimento de suas vias metabólicas permite o ajuste da posologia de acordo com a função renal e hepática do paciente (Bosco, 2001). Segundo a ANVISA. (1999), o atenolol apresenta absorção via oral incompleta (aproximadamente 50%), com concentração plasmática máxima ocorrendo 2 a 4 horas após administração. Não há metabolismo hepático significativo e os rins representam a principal via de eliminação. O propranolol é completamente absorvido após administração oral, atingindo concentrações plasmáticas máximas após 1 a 2 horas. A metabolização é hepática e a eliminação principalmente renal. Da mesma forma, o carvedilol também é rapidamente absorvido por via oral, atingindo

concentração sérica máxima em 1 hora. Seu metabolismo hepático é extenso e sua eliminação é primariamente biliar, sendo as fezes a principal via de excreção. Pequena fração é eliminada pelos rins. Por fim o metoprolol, conta com absorção por via oral, sendo rápida e atingindo níveis plasmáticos máximos após duas horas. Sua metabolização é hepática e a excreção, renal. Em relação à cinética intradialítica, o atenolol é facilmente removido durante a hemodiálise, contrariamente o propranolol, carvedilol e metoprolol são praticamente não dialisáveis (LEVIN et al. 2010).

Cice et al. (2003), avaliaram 114 pacientes em hemodiálise portadores de miocardiopatia dilatada em uso de carvedilol comparados com placebo. O autor reportou diminuição da mortalidade e necessidade de internação hospitalar nos pacientes do grupo carvedilol. Da mesma forma, Agarwal et al. (2014), avaliaram o uso de lisinopril vs. atenolol em 200 pacientes hipertensos em hemodiálise com hipertrofia do ventrículo esquerdo, demonstrando benefício cardiovascular no grupo em uso de atenolol.



### **3 JUSTIFICATIVA**

A doença cardiovascular é a principal causa de morte entre os pacientes portadores de DRCT em hemodiálise. A desregulação do SRA exerce significativa influência na progressão da DCV e renal. A análise dos componentes do SRA nos pacientes DRCT em hemodiálise pode auxiliar no entendimento do comportamento deste sistema, bem como na elucidação dos efeitos da terapia dialítica e medicamentosa, auxiliando as condutas clínicas e minimizando o impacto das alterações decorrentes da doença e de seu tratamento, visando diminuir a morbimortalidade desta população.





## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo Geral

- Analisar o SRA dos pacientes DRCT em hemodiálise.

### 4.2 Objetivos Específicos

- Elucidar a repercussão da sessão de hemodiálise sobre os componentes do SRA dos pacientes DRCT em hemodiálise.
  - Comparar a atividade da ECA sérica de pacientes com DRCT antes e após uma sessão regular de hemodiálise;
  - Comparar a atividade da ECA2 sérica de pacientes com DRCT antes e após uma sessão regular de hemodiálise;
  - Comparar a concentração plasmática de Ang I de pacientes com DRCT antes e após uma sessão regular de hemodiálise;
  - Comparar a concentração plasmática de Ang II de pacientes com DRCT antes e após uma sessão regular de hemodiálise;
  - Comparar a concentração plasmática de Ang-(1-7) de pacientes com DRCT antes e após uma sessão regular de hemodiálise.
- Estudar o efeito dos fármacos e da sessão de hemodiálise sobre o SRA em pacientes portadores de DRCT em hemodiálise.
  - Estudar o efeito dos inibidores da ECA e dos bloqueadores do Receptor de Angiotensina II do tipo 1, assim como, da sessão de hemodiálise, na atividade da ECA em pacientes portadores de DRCT em hemodiálise;
  - Estudar o efeito dos inibidores da ECA e dos bloqueadores do Receptor de Angiotensina II do tipo 1 (AT1), assim como, da sessão de hemodiálise, na atividade da ECA 2 em pacientes portadores de DRCT em hemodiálise;
  - Estudar o efeito dos inibidores da ECA e dos bloqueadores do Receptor de Angiotensina II do tipo 1, assim como, da sessão de hemodiálise, na concentração plasmática de Angiotensina I em pacientes portadores de DRCT em hemodiálise;
  - Estudar o efeito dos inibidores da ECA e dos bloqueadores do Receptor de Angiotensina II do tipo 1, assim como, da sessão de hemodiálise, na

concentração plasmática de Angiotensina II em pacientes portadores de DRCT em hemodiálise;

- Estudar o efeito dos inibidores da ECA e dos bloqueadores do Receptor de Angiotensina II do tipo 1, assim como, da sessão de hemodiálise, na concentração plasmática de Angiotensina (1-7) em pacientes portadores de DRCT em hemodiálise.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Aspectos éticos

O projeto atendeu aos preceitos éticos para pesquisas envolvendo seres humanos, preconizados na Resolução 466 do Conselho Nacional de Saúde de 12 de dezembro de 2012 manifestado por meio de parecer de Número: 2.453.600 emitido pelo Comitê de Ética de Pesquisa com Seres Humanos da UFVJM, *campus* de Diamantina-MG em 21 de dezembro de 2017. Todos os voluntários foram devidamente orientados sobre o objetivo, riscos e benefícios diretos e indiretos da pesquisa e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### 5.2 Amostra

Este estudo caracterizado como observacional analítico transversal, recrutou 187 pacientes maiores de 18 (dezoito) anos que realizavam hemodiálise por mais de 3 (três) meses em um Hospital de Referência em Terapia Renal Substitutiva na cidade de Teófilo Otoni-MG.

### 5.3 Critérios de Inclusão

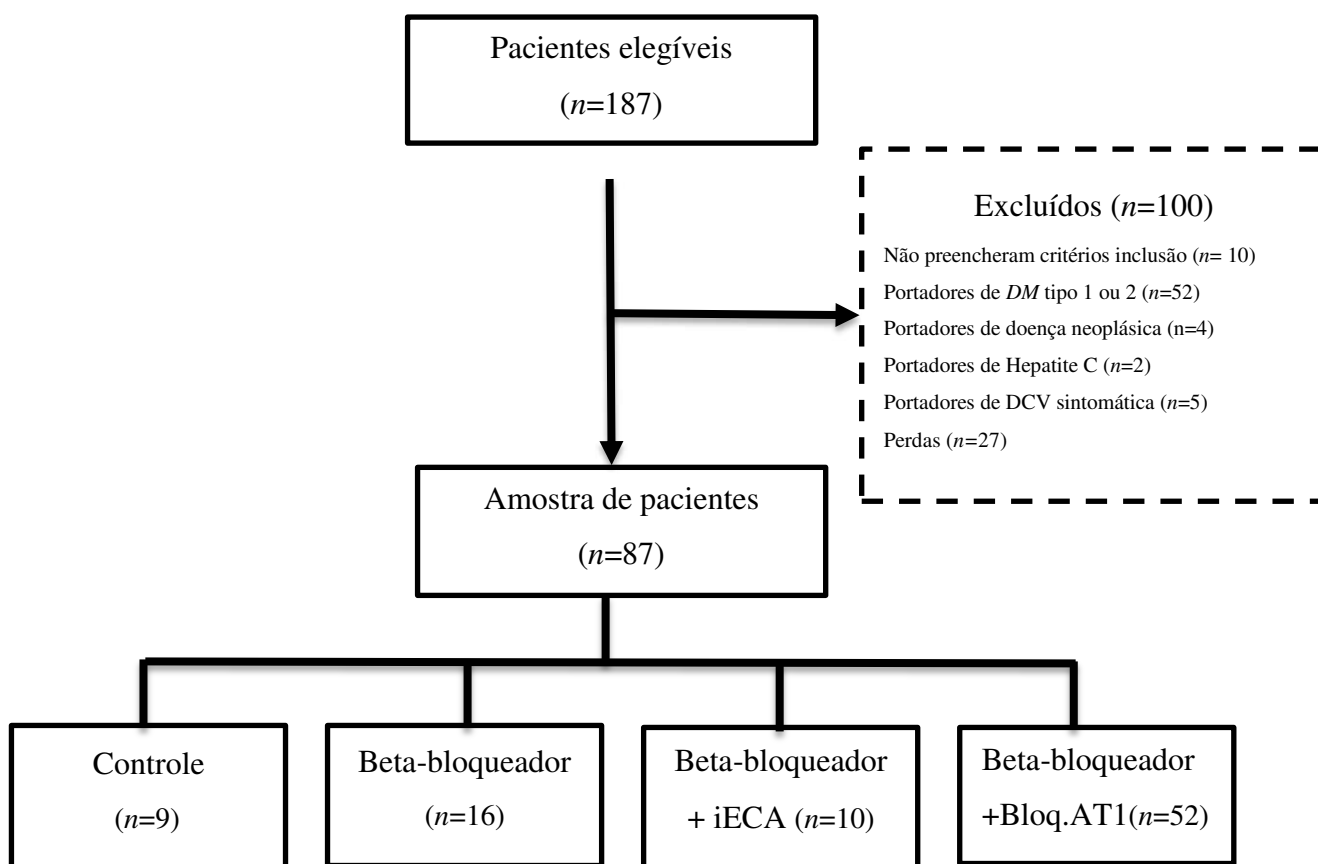
Foram incluídos 177 pacientes portadores de Doença Renal Crônica estágio 5 D, definida como  $TFG < 10\text{mL/min/1,73m}^2$ .

### 5.4 Critérios de Exclusão

Foram considerados critérios de exclusão: presença de Injúria Renal Aguda (IRA), *Diabetes Mellitus* (DM) tipo 1 ou 2, doença neoplásica conhecida, uso de medicação imunossupressora, sorologia Hepatite C positiva, doença cardiovascular sintomática nos últimos 3 meses, sendo esta delimitada como infarto agudo do miocárdio, revascularização coronária, insuficiência cardíaca descompensada, acidente vascular cerebral (AVC) ou necessidade de amputação por insuficiência vascular ou complicações relacionadas. Foram excluídos 10 pacientes com IRA, 52 pacientes portadores de DM, 4 pacientes com doença neoplásica conhecida e 5 pacientes com DCV sintomática nos últimos 3 meses. Após essa exclusão permaneceram no estudo 114 pacientes. Contudo, a amostra final foi representada

por 87 pacientes. Este número final se deveu às perdas (27) ocorridas em virtude de desistências, não comparecimento dos pacientes na data estipulada para coleta de sangue e extravio de amostras. Assim, os pacientes foram divididos em 4 grupos de acordo com os fármacos por eles utilizados: Grupo Controle ( $n=9$ ): sem medicamentos anti-hipertensivos (SM); Grupo Beta-bloqueador ( $n=16$ ): usuários de antagonistas dos receptores beta adrenérgicos; Grupo Beta-bloqueador+iECA ( $n=10$ ): associação de antagonistas dos receptores beta adrenérgicos e inibidores da enzima de conversão de angiotensina I; Grupo Beta-bloqueador+Bloq.AT1 ( $n=52$ ): associação de antagonistas dos receptores beta adrenérgicos e antagonistas dos receptores da angiotensina II tipo AT1 (Figura 3).

Figura 3 - Recrutamento e divisão dos pacientes selecionados entre os grupos conforme os fármacos utilizados. Controle: não utiliza medicamentos; Beta-bloqueador: pacientes em uso de antagonistas dos receptores beta adrenérgicos; Beta-bloqueador+iECA: pacientes em uso de antagonistas dos receptores beta adrenérgicos e inibidores da enzima de conversão de angiotensina I; Beta-bloqueador+Bloq.AT1: pacientes em uso de antagonistas dos receptores beta adrenérgicos e antagonistas dos receptores da angiotensina II tipo AT1.



## 5.5 Coleta e estocagem das amostras

Os pacientes DRCT participantes do estudo tiveram o sangue coletado imediatamente antes e após a primeira sessão de hemodiálise da semana.

O sangue foi coletado por técnicos de enfermagem devidamente capacitados, através de agulha inserida na fistula arteriovenosa ou linha venosa do cateter duplo lúmen, com técnica asséptica. Após a coleta, o sangue total foi armazenado em tubos específicos contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), assim como em tubos secos. Os tubos com EDTA foram utilizados para obtenção do plasma e os tubos secos para obtenção do soro. Importante ressaltar, que nos tubos com EDTA foram adicionados 10µL para cada mL de sangue, do inibidor de protease SigmaFast® S8820 [2 mM 4-benzenossulfonilo (AEBSF); 14 µM E-64; 130 µM Ubenimex; 1 µM leupeptina; 0.3 µM aprotinina; e 1 mM EDTA] na diluição de 1:100.

Para cada paciente foram coletados 4 tubos, contendo, cada um deles 5mL de sangue total, a saber:

- 1 tubo com EDTA pré hemodiálise
- 1 tubo com EDTA pós hemodiálise
- 1 tubo seco pré hemodiálise
- 1 tubo seco pós hemodiálise.

Após a coleta, os tubos contendo EDTA e os tubos secos foram centrifugados durante 5 minutos a 3000xg e temperatura de -4°C, para extração do plasma e soro. Após a centrifugação, 1 mL do sobrenadante foi coletado e estocado à -80°C para posterior realização dos ensaios bioquímicos, a saber: as amostras de plasma foram utilizadas para a realização das dosagens de Ang I, Ang II e Ang-(1-7); Já, as amostras de soro foram utilizadas para a mensuração das atividades das enzimas ECA e ECA2.

## 5.6 Parâmetros Bioquímicos

### 5.6.1 Determinação das atividades enzimáticas da ECA e ECA2

As atividades enzimáticas foram realizadas pelo Laboratório de Rim e Hormônios por meio de parceria estabelecida com a Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP),

localizado na Rua Pedro de Toledo, número 720, 2º andar (Hospital São Paulo), São Paulo-SP.

#### 5.6.2 Determinação da atividade enzimática da ECA

A atividade da ECA foi determinada fluorimetricamente, utilizando Z-Phe-His-Leu (Z-Phe-HL) (PIQUILLOUD; REINHARZ; ROTH, 1970; FRIEDLAND; SILVERSTEIN, 1976) como substrato. O tampão padrão utilizado para os ensaios foi o borohidrato de sódio 100 mM, pH 8,3, contendo NaCl 300 mM e ZnSO<sub>4</sub> 0,1 Mm,. Alíquotas de soro (10µL) foram incubadas a 37°C, com 200 µL dos substratos Z-Phe-HL, durante um período de 10 minutos, sendo que as reações enzimáticas foram interrompidas com 1,5 mL de NaOH 0,28 N (mol/L). O dipeptídeo His-Leu liberado foi acoplado ao marcador fluorescente ortoftaldialdeído (20 mg/mL, em metanol), sendo a reação fluorimétrica interrompida após 10 minutos pela adição de 200 µL HCl 3 N. A seguir, a leitura da fluorescência (excitação: 360 nm; emissão: 465 nm) foi realizada em equipamento *Infinity* F200 (Tecan, Suíça). Todas as amostras foram ensaiadas em duplicata, sendo a fluorescência intrínseca da amostra foi corrigida através de brancos.

#### 5.6.3 Determinação da atividade enzimática da ECA2

A atividade enzimática da ECA2 no soro foi determinada fluorimetricamente. Foram utilizados 10 µL de cada amostra incubados a 37°C em tampão Tris-HCl 75 mM, NaCl 1M, pH 6,5 contendo 10µM de captopril, 0,5µM de ZnCl<sub>2</sub>, coquetel de inibidores de protease complete mini EDTA free (Roche) (1 pastilha/10 mL) na presença do substrato fluorogênico Mca-APK (Dnp) (Aminotech, Brasil) na concentração final de 10 µM. As leituras fluorimétricas (excitação: 320 nm; emissão: 420 nm) foram realizadas em fluorímetro *Infinite* 200 (TECAN, Suíça) nos tempos 0 e 60 minutos e as medidas de fluorescência, em unidades arbitrárias foram registradas para posterior cálculo. A atividade enzimática foi expressa em mU/mL. O protocolo foi baseado no trabalho de Pedersen et al. (2011), com algumas modificações. Os ensaios das amostras foram realizados em duplicata, sendo a fluorescência intrínseca da amostra corrigida por meio de brancos.

#### 5.6.4 Determinação da concentração plasmáticas das angiotensinas

A determinação das concentrações plasmáticas das angiotensinas foi realizada pelo Labfar por meio de parceria estabelecida com a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), localizado no Parque Tecnológico de Belo Horizonte – BHTEC, 3º andar, salas 311/312, Belo Horizonte-MG.

Foram utilizados 600µL de amostra (300µL plasma+300µL ácido fosfórico 4% v/v) que foram adicionados a placa Oasis WCX Eluion Plate 30µm onde foi realizada a extração dos peptídeos por microextração em fase sólida.

A quantificação dos peptídeos, Ang I, Ang II e Ang-(1-7), foi realizada por espectrometria de LC-MS/MS em um Espectrômetro de Massa Waters Xevo, TQ-S ESI+ triplo quadrupolo acoplado a um sistema Waters Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC) Acquity I-Class System. As curvas de calibração foram realizadas utilizando-se padrões analíticos da Sigma.

As amostras solubilizadas na fase móvel (Acetonitrila 3,0%) foram analisadas por sistema UPLC (Waters®) em uma coluna de fase reversa C18 (BEH C18 2.1x100 mm; 1.7µm, Waters) utilizando como fase móvel orgânica acetonitrila 95% adicionada de ácido fórmico 0,01% em um fluxo de 0,5mL/min. O espectrômetro de massa é equipado com uma fonte de ionização Z-spray e é controlado pelo software MassLynx 4.0 (Waters Corporation, Milford, MA, EUA). A ionização por eletrospray no modo positivo foi feita utilizando os seguintes parâmetros: voltagem do capilar: 3,5 KV; voltagem do cone: 15 V; temperatura de dessolvatação: 300 °C; fluxo do gás de dessolvatação: 1000L/h; temperatura da fonte: 120 °C. Os resultados foram expressos em pg/mL. O protocolo foi baseado no trabalho de ALI et al. (2014), com modificações.

### 5.7 Análise Estatística

Para análise da distribuição dos dados, foi utilizado o teste de *Shapiro-Wilk*. Cabe ressaltar, que alguns dados foram transformados para o logaritmo natural. Desta forma, quando os dados passaram no teste de normalidade, testes paramétricos foram aplicados na análise estatística. Por outro lado, os dados que não apresentaram distribuição normal, foram analisados por testes não paramétricos.

Para comparação entre o período Pré-HD e Pós-HD, foi utilizado o teste *t* de *student* para amostras pareadas ou teste de *Wilcoxon*. Já para as análises dos níveis de

hormônios entre os grupos estudados foi utilizado a Análise Variância (ANOVA) *post hoc* de *Tukey* ou o teste de *Kruskal-Wallis*. O nível de significância adotado foi  $p < 0,05$ .



## 6 RESULTADOS

### 6.1 Características da Amostra

Participaram do estudo 87 pacientes portadores de DRC em HD. Estes pacientes foram estratificados em 4 grupos de acordo com os fármacos utilizados: Controle ( $n=9$ ), Beta-bloqueador ( $n=16$ ), Beta-bloqueador+iECA ( $n=10$ ), Beta-bloqueador+Bloq.AT1 ( $n=52$ ). A tabela 2 apresenta as características clínicas e bioquímicas dos pacientes estudados. Podemos observar que em relação aos parâmetros clínicos: idade, peso seco e pressão arterial sistólica e diastólica pré diálise; assim como, os parâmetros bioquímicos: hemoglobina, cálcio, fósforo, ureia pré hemodiálise e ureia pós hemodiálise, não foram observadas diferenças, demonstrando a homogeneidade entre os grupos. No entanto, o potássio sérico mostrou-se mais elevado no grupo Beta-bloqueador+iECA quando comparado ao grupo Controle.

Tabela 2 – Características clínicas e bioquímicas dos pacientes estudados.

Características	Controle (n=9)	Beta- bloqueador (n=16)	Beta- bloqueador +iECA (n=10)	Beta- bloqueador+ Bloq.AT1 (n=52)	P
<b>Grupos</b>					
<b>Idade (anos)</b>	59±9,79	57,81±16,47	57±14,64	52,88±13,56	0,4304
<b>Gênero (M/F)</b>	5 / 4	5 / 11	8 / 2	30 / 22	-
<b>Peso seco (Kg)</b>	53,32±8,44	57,58±13,03	58,74±14,48	59,64±11,63	0,5249
<b>Pressão Arterial Sistólica Pré</b>	128,9±20,28	128,8±14,55	134,0±14,3	135,6±20,18	0,560
<b>Pressão Arterial Diastólica Pós</b>	84,44±15,9	83,75±10,88	86,0±8,43	86,15±11,74	0,700
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	11,02±1,98	10,63±1,84	9,42±2,00	10,97±1,91	0,1335

<b>Cálcio total (mg/dL)</b>	9,722±0,90	9,944±1,02	9,78±1,36	9,563±0,63	0,4448
<b>Fósforo (mg/dL)</b>	4,544±1,17	4,463±1,92	4,87±1,73	4,79±1,34	0,8470
<b>Potássio (mEq/L)</b>	4,944±0,86	5,138±0,76	6,07±1,34*	5,775±0,97	0,0125
<b>Ureia-pré (mg/dL)</b>	116,1±38,9	114,6±40,03	144,7±50,81	138,2±33,7	0,0645
<b>Ureia-pós (mg/dL)</b>	36±17,12	31,19±17,26	36,6±8,044	40,59±19,02	0,3073

Os dados foram expressos como média±desvio padrão da média. Utilizou-se Análise de Variância one way *post hoc* de Tukey \* $p < 0,05$  vs. controle.

## 6.2 Atividade da ECA Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT em HD

A figura 4 apresenta a atividade da ECA nos pacientes estudados ( $n=87$ ) antes e após uma sessão de hemodiálise. Como pode ser observado, a atividade da ECA aumentou no período pós dialítico (Pré-HD:  $82,89 \pm 33,72$   $\mu\text{U/mL}$  vs. Pós-HD:  $99,0 \pm 37,81$   $\mu\text{U/mL}$ ).

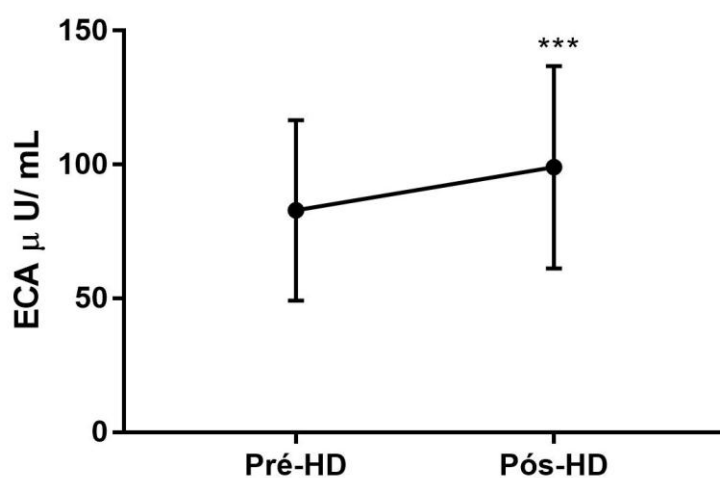


Figura 4 – Análise da atividade da ECA Pré-HD e Pós-HD nos pacientes estudados ( $n=87$ ). Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão da média. Utilizou-se teste de *t de student* pareado \*\*\*  $p>0,001$  vs. Pré-HD.

### 6.3 Atividade da ECA2 Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT em HD

A figura 5 apresenta a atividade da ECA2 dos pacientes estudados antes e após uma sessão de hemodiálise. Como pode ser observado, a atividade da ECA 2, reduziu no período pós dialítico (Pré-HD:  $\log -2,061 \pm 0,6868$   $\mu\text{U/mL}$  vs. Pós-HD:  $\log -2,229 \pm 0,6979$   $\mu\text{U/mL}$ ).

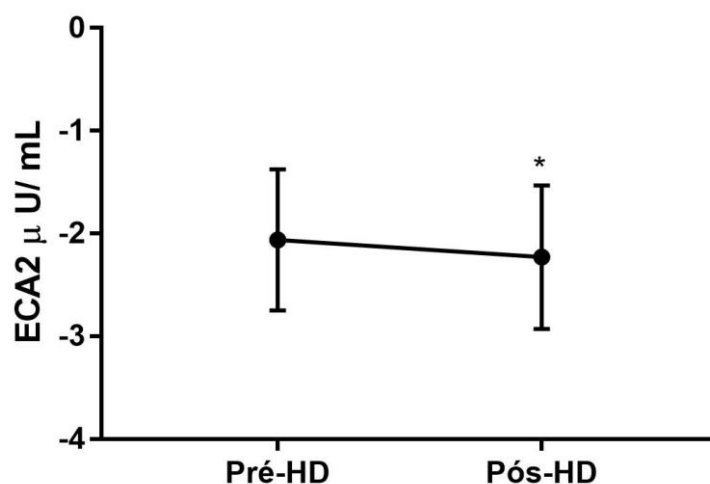


Figura 5 – Análise da atividade da ECA2 Pré-HD e Pós-HD nos pacientes estudados ( $n=87$ ). Valores expressos em média do logaritmo natural  $\pm$  desvio padrão da média. Utilizou-se teste de *t de student* pareado \*  $p>0,05$  vs. Pré-HD.

### 6.4 Concentração Plasmática da Ang I Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT em HD

A figura 6 apresenta a concentração plasmática da Ang I nos pacientes estudados ( $n=87$ ) antes e após uma sessão de hemodiálise. Como pode ser observado, não houve diferença: Pré-HD: 448,9 (41,17-2215) pg/mL vs. Pós-HD: 429,4 (52,66-2579) pg/mL.

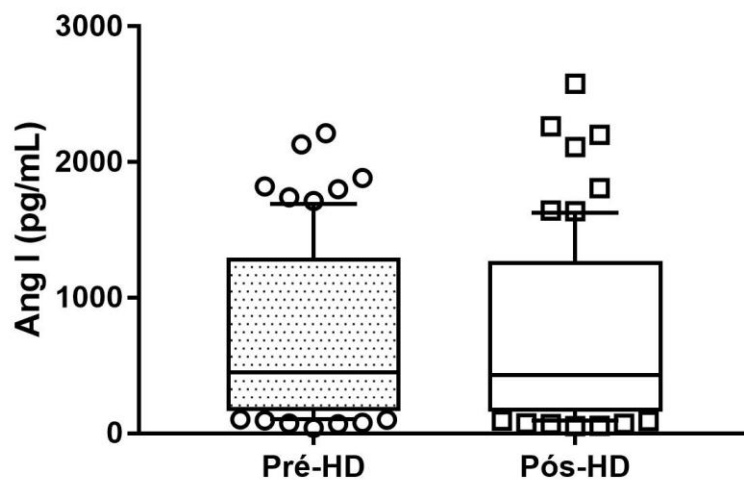


Figura 6 – Análise da concentração plasmática de Ang I nos períodos Pré-HD e Pós-HD nos pacientes estudados ( $n=87$ ). Valores expressos em mediana com intervalo de variação interquartílica. Utilizou-se teste de *Wilcoxon* pareado adotando um nível de significância com  $p>0,05$ .

### 6.5 Concentração Plasmática da Ang II Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT em HD

A figura 7 apresenta a concentração plasmática da Ang II nos pacientes estudados ( $n=87$ ) antes e após uma sessão de hemodiálise. Como pode ser observado, houve redução da concentração plasmática de Ang II no período pós dialítico: Pré-HD:  $\log 0,5123 \pm 0,8048$  pg/mL vs. Pós-HD:  $\log 0,1375 \pm 0,8308$  pg/mL.

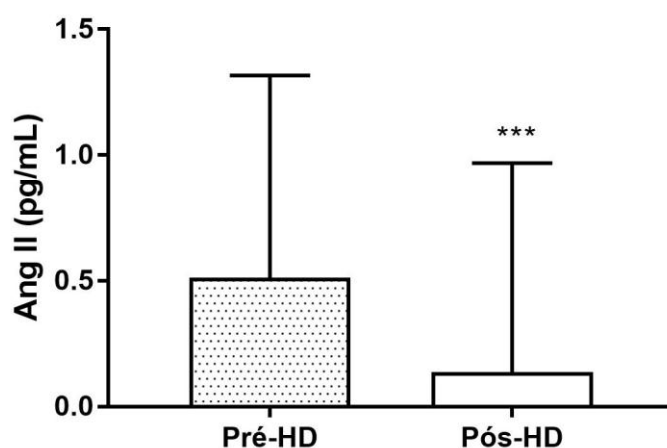


Figura 7 – Análise da concentração plasmática de Ang II nos períodos Pré-HD e Pós-HD nos pacientes estudados ( $n=87$ ). Valores expressos em média do logaritmo natural  $\pm$  desvio padrão da média. Utilizou-se teste de *t de student* pareado \*\*\* $p>0,001$  vs. Pré-HD.

#### 6.6 Concentração Plasmática da Ang-(1-7) Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT em HD

A figura 8 apresenta a concentração plasmática da Ang-(1-7) dos pacientes estudados ( $n=87$ ) antes e após uma sessão de hemodiálise. Como pode ser observado, não houve diferença: Pré-HD:  $\log 1,516 \pm 0,9569$  pg/mL vs. Pós-HD:  $\log 1,643 \pm 1,184$  pg/mL.

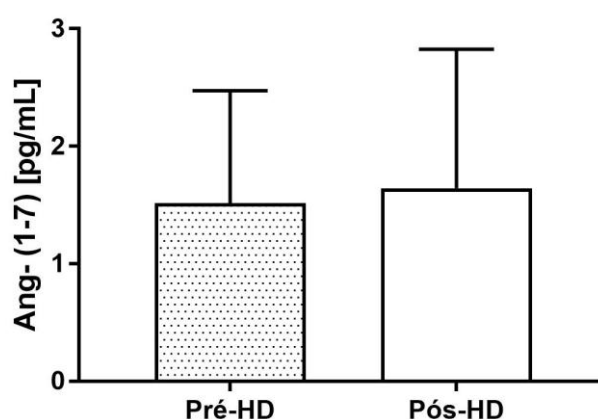


Figura 8 – Análise da concentração plasmática de Ang-(1-7) Pré-HD e Pós-HD nos pacientes estudados ( $n=87$ ). Valores expressos em média do logaritmo natural  $\pm$  desvio padrão da média. Utilizou-se teste *t de student* pareado adotando um nível de significância com  $p>0,05$ .

### 6.7 Atividade da ECA no Período Pré-HD e Pós-HD nos Grupos Estudados

A Tabela 3 apresenta os resultados de atividade da ECA antes e após uma única sessão de hemodiálise nos grupos estudados: Controle, Beta-bloqueador, Beta-bloqueador+iECA e Beta-bloqueador+Bloq.AT1. Como podemos observar, não houve diferença na atividade da ECA antes e após sessão de hemodiálise no grupo Controle. No entanto, a atividade dessa enzima se mostrou aumentada no período Pós-HD nos demais grupos (Beta-bloqueador: Pré-HD=  $\log 4,434 \pm 0,353$   $\mu\text{U/mL}$  vs. pós-HD=  $\log 4,613 \pm 0,425$   $\mu\text{U/mL}$ ; Beta-bloqueador +iECA: Pré-HD=  $\log 3,452 \pm 1,275$   $\mu\text{U/mL}$  vs. Pós-HD=  $\log 4,062 \pm 0,7292$   $\mu\text{U/mL}$ ; Beta-bloqueador+Bloq.AT1: Pré-HD=  $\log 4,388 \pm 0,3438$   $\mu\text{U/mL}$  vs. Pós-HD=  $\log 4,573 \pm 0,3577$   $\mu\text{U/mL}$ ).

Tabela 3 – Atividade da ECA circulante Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT dos grupos estudados

Grupo	Pré-HD $\mu\text{U/mL}$	Pós-HD $\mu\text{U/mL}$	<i>P</i>
Controle ( <i>n</i> =9)	4,461 $\pm$ 0,2535	4,446 $\pm$ 0,4161	0,9292
Beta-bloq ( <i>n</i> =16)	4,434 $\pm$ 0,353	4,613 $\pm$ 0,425**	0,0006
Beta-bloq+ iECA ( <i>n</i> =10)	3,452 $\pm$ 1,275	4,062 $\pm$ 0,7292*	0,0105
Beta-bloq+ Bloq. AT1 ( <i>n</i> =52)	4,388 $\pm$ 0,3438	4,573 $\pm$ 0,3577**	<0,0001

Os dados estão expressos em média do logaritmo natural  $\pm$  desvio padrão da média. ECA: enzima conversora de angiotensina I; Beta-bloq: beta-bloqueador; iECA: inibidores da enzima conversora de Angiotensina II; Bloq. AT1: bloqueador do receptor de Angiotensina II subtipo AT1; Pré-HD: antes de uma única sessão de hemodiálise; Pós-HD: após uma única sessão de hemodiálise. Utilizou-se teste *t* de *student* pareado \* $p < 0,05$  vs. Pré-HD, \*\*  $p < 0,001$  vs. Pré-HD.

## 6.8 Comparação da Atividade da ECA entre os Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD

A Tabela 4 apresenta comparação da atividade da ECA entre os grupos estudados no período Pré-HD, assim como, a comparação no período Pós-HD. Portanto, quando analisado a atividade da ECA dos grupos estudados no período Pré-HD, foi encontrados atividade reduzida no grupo Beta-bloqueador+iECA ( $\log 3,406 \pm 1,275 \mu\text{U/mL}$ ) quando comparado aos grupos Controle ( $\log 4,61 \pm 0,2535 \mu\text{U/mL}$ ), Beta-bloqueador ( $\log 4,434 \pm 0,353 \mu\text{U/mL}$ ) e Beta-bloqueador+Bloq. AT1 ( $\log 4,388 \pm 0,3438 \mu\text{U/mL}$ ). No entanto, no período Pós-HD, foi observado reduzida atividade enzimática no grupo beta-bloqueador+iECA ( $\log 4,062 \pm 0,1936 \mu\text{U/mL}$ ) quando comparado ao grupo Beta-bloqueador ( $\log 4,613 \pm 0,093 \mu\text{U/mL}$ ) e Beta-bloqueador+Bloq.AT1 ( $\log 4,573 \pm 0,0818 \mu\text{U/mL}$ ), mas não quando comparado ao grupo Controle ( $\log 4,446 \pm 0,101 \mu\text{U/mL}$ ).

Tabela 4 – Comparação da atividade da ECA circulante entre os Grupos Estudados no período Pré-HD e no período Pós-HD

Grupo	Controle (n=9)	Beta-bloq (n=16)	Beta-bloq+ iECA (n=10)	Beta-bloq+ Bloq. AT1 (n=52)
<b>Pré-HD</b> $\mu\text{U/mL}$	4,61 $\pm$ 0,253	4,434 $\pm$ 0,353	3,406 $\pm$ 1,275**††§§	4,388 $\pm$ 0,3438
<b>Pós-HD</b> $\mu\text{U/mL}$	4,446 $\pm$ 0,101	4,613 $\pm$ 0,093	4,062 $\pm$ 0,1936†§	4,573 $\pm$ 0,0818

Os dados estão expressos em média do logaritmo natural  $\pm$  desvio padrão da média. ECA: Enzima Conversora de Angiotensina II; Beta-bloq: beta bloqueador; iECA: inibidores da enzima conversora de Angiotensina II; Bloq. AT1: bloqueador do receptor de Angiotensina II subtipo AT1; Pré-HD: antes da sessão de hemodiálise; Pós-HD: após a sessão de hemodiálise. Utilizou-se ANOVA *one way post hoc* de Tukey. \*\* $p < 0,001$  vs. grupo Controle †† $p < 0,001$  vs. Beta-bloq §§ $p < 0,001$  vs. Beta-bloq + bloq.AT1 † $p < 0,05$  vs. grupo Beta-bloq. §  $p < 0,05$  vs. Beta-bloq + bloq.AT1.

### 6.9 Atividade da ECA2 no Período Pré-HD e Pós-HD nos Grupos Estudados

A Tabela 5 apresenta os resultados da comparação da atividade da ECA2 Pré-HD e Pós-HD. Os resultados mostraram, quando comparado a atividade da ECA 2 entre os períodos Pré-HD e Pós-HD, diminuição na atividade da enzima no período Pós-HD somente no grupo Beta-bloq+ Bloq. AT1 (Pré-HD=  $\log -1,908 \pm 0,705 \mu\text{U/mL}$  vs. Pós-HD=  $\log -2,171 \pm 0,721 \mu\text{U/mL}$ ). Ademais, não foi encontrado diferença quando comparado a atividade da ECA 2 entre estes períodos nos demais grupos estudados.

Tabela 5 – Atividade da ECA2 circulante dos pacientes Pré-HD e Pós-HD nos grupos estudados

<b>Grupo</b>	<b>Pré-HD <math>\mu\text{U/mL}</math></b>	<b>Pós HD <math>\mu\text{U/mL}</math></b>	<b><i>P</i></b>
<b>Controle (n=9)</b>	-2,186 $\pm$ 0,818	-2,064 $\pm$ 0,659	0,7029
<b>Beta-bloq (n=16)</b>	-2,39 $\pm$ 0,563	-2,476 $\pm$ 0,765	0,6698
<b>Beta-bloq+ iECA (n=10)</b>	-1,938 $\pm$ 0,530	-2,104 $\pm$ 0,443	0,3439
<b>Beta-bloq+ Bloq. AT1 (n=52)</b>	-1,908 $\pm$ 0,705	-2,171 $\pm$ 0,721*	0,0386

Os dados estão expressos em logaritmo natural  $\pm$  desvio padrão da média. ECA2: Enzima Conversora de Angiotensina II; Beta-bloq: beta bloqueador; iECA: inibidores da enzima conversora de Angiotensina II; Bloq. AT1: bloqueador do receptor de Angiotensina II subtipo AT1; Pré-HD: antes da sessão de hemodiálise; Pós-HD: após a sessão de hemodiálise. Utilizou-se o teste *t* de *student* pareado \* $p < 0,05$  vs. Pré-HD.



### 6.10 Comparação da Atividade da ECA 2 entre os Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD

A Tabela 6 apresenta a comparação da atividade da ECA 2 entre os grupos estudados no período Pré-HD, assim como, a comparação no período Pós-HD. Sendo assim, quando analisado a atividade da ECA 2 proveniente do soro coletado no período Pré-HD, foi encontrado maior atividade da enzima no grupo Beta-bloq+Bloq. AT1 ( $\log -1,908 \pm 0,705 \mu\text{U/mL}$ ) quando comparado grupo Beta-bloq ( $\log -2,39 \pm 0,563 \mu\text{U/mL}$ ). No entanto, no período Pós-HD, não foi observado diferença na atividade enzimática entre os grupos.

Tabela 6 – Comparação da atividade da ECA 2 circulante entre os grupos no período Pré-HD e no período Pós-HD

Grupo	Controle (n=9)	Beta-bloq (n=16)	Beta-bloq+ iECA (n=10)	Beta-bloq+ Bloq. AT1 (n=52)
<b>Pré-HD</b> $\mu\text{U/mL}$	-2,186 $\pm$ 0,818	-2,39 $\pm$ 0,563	-1,938 $\pm$ 0,530	-1,908 $\pm$ 0,705 $\dagger\dagger$
<b>Pós-HD</b> $\mu\text{U/mL}$	-2,262 $\pm$ 0,659	-2,476 $\pm$ 0,765	-2,104 $\pm$ 0,443	-2,171 $\pm$ 0,721

Os dados estão expressos em média do logaritmo natural  $\pm$  desvio padrão da média. ECA2: Enzima Conversora de Angiotensina II; Beta-bloq: beta bloqueador; iECA: inibidores da enzima conversora de Angiotensina II; Bloq. Receptor AT1: bloqueador do receptor de Angiotensina II subtipo AT1; Pré-HD: antes da sessão de hemodiálise; Pós-HD: após a sessão de hemodiálise. Utilizou-se ANOVA *one way post hoc* de Tukey  $\dagger\dagger p < 0,001$  vs. Beta-bloq.

Após análise das atividades enzimáticas, os níveis hormonais de Ang I, Ang II e Ang-(1-7) foram analisados por meio da espectrometria de massas.

### 6.11 Concentração Plasmática de Ang I nos Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD nos pacientes DRCT

A figura 9 apresenta os valores da concentração plasmática da Ang I nos grupos estudados antes e após uma sessão de hemodiálise. Como pode ser observado, não houve diferença em nenhum dos grupos estudados: Controle Pré-HD: 791,9 (143,8 – 1505,0) vs. Pós-HD: 568,4 (57,6 – 1372,0) pg/mL; Beta-bloqueador Pré-HD: 347,2 (148,1-834,8) vs. Pós-HD: 243,2 (159,7-1268,0) pg/mL; Beta-bloqueador+iECA Pré-HD: 933,5 (389,1-1543,0) vs. Pós-HD: 869,2 (175,2-1260) pg/mL; Beta-bloqueador+Bloq.AT1 Pré-HD: 569,1 (202,3-11288,0) vs. Pós-HD: 468,0 (136,2-7830) pg/mL.

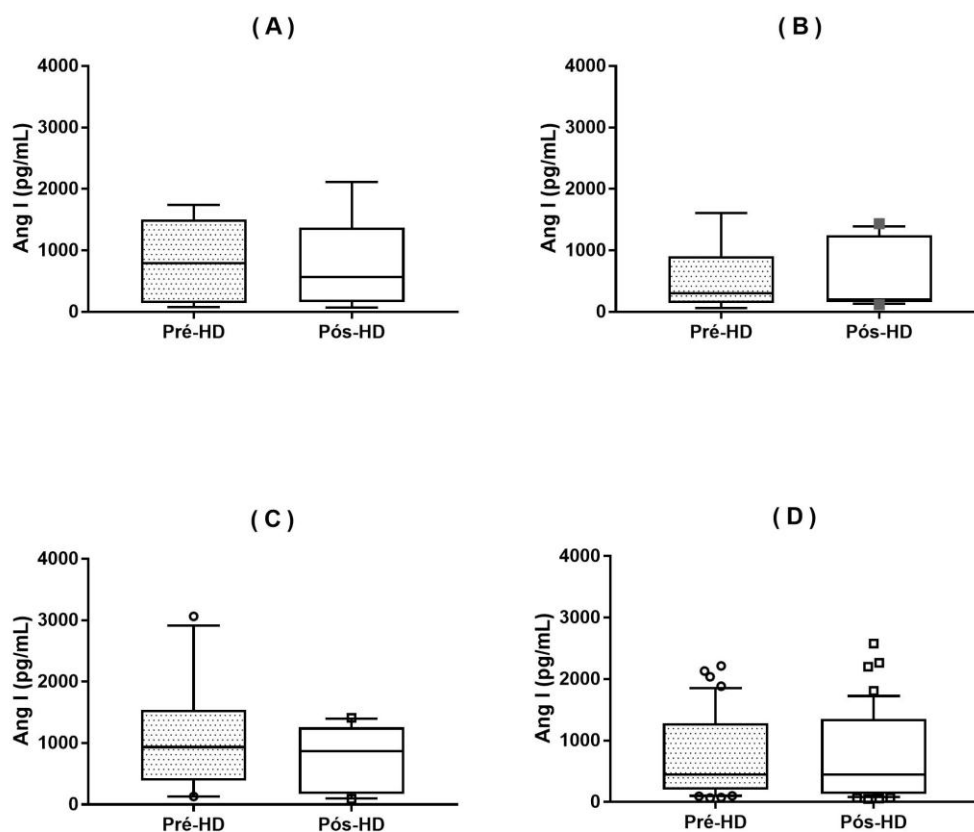


Figura 9 - Análise da concentração plasmática de Ang I nos períodos Pré-HD e Pós-HD no grupo Controle ( $n=8$ ; A), Beta-bloqueador ( $n=13$ ; B), Beta-bloqueador+iECA ( $n=10$ ; C), Beta-bloqueador+Bloq.AT1 ( $n=47$ ; D). Valores expressos em mediana com intervalo de variação interquartílica. Utilizou-se teste de *Wilcoxon* pareado adotando um nível de significância com  $p>0,05$ .

## 6.12 Comparação da Concentração Plasmática de Ang I entre os Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD

A figura 10 apresenta a comparação da concentração plasmática da Ang I entre os grupos estudados no período Pré-HD e Pós-HD. Como pode ser observado, não houve diferença entre os grupos no período Pré-HD: Controle 791,9 (143,8 – 1505,0) pg/mL; Beta-bloqueador 304,3 (138-752,7) pg/mL; Beta-bloqueador+iECA 933,5 (389,1-1543,0) pg/mL; Beta-bloqueador+Bloq. AT1 601,1 (202,3-1385) pg/mL. Similarmente, a comparação dos valores Pós-HD da concentração da Ang I plasmática não apresentou diferença entre os grupos: Controle 599,6 (175,8-1788) pg/mL; Beta-bloqueador 264,1 (160,1-1264,0) pg/mL; Beta-bloqueador+iECA 869,2 (75,2-1260,0) pg/mL; Beta-bloqueador+Bloq. AT1 468,0 (136,2-1408,0) pg/mL.

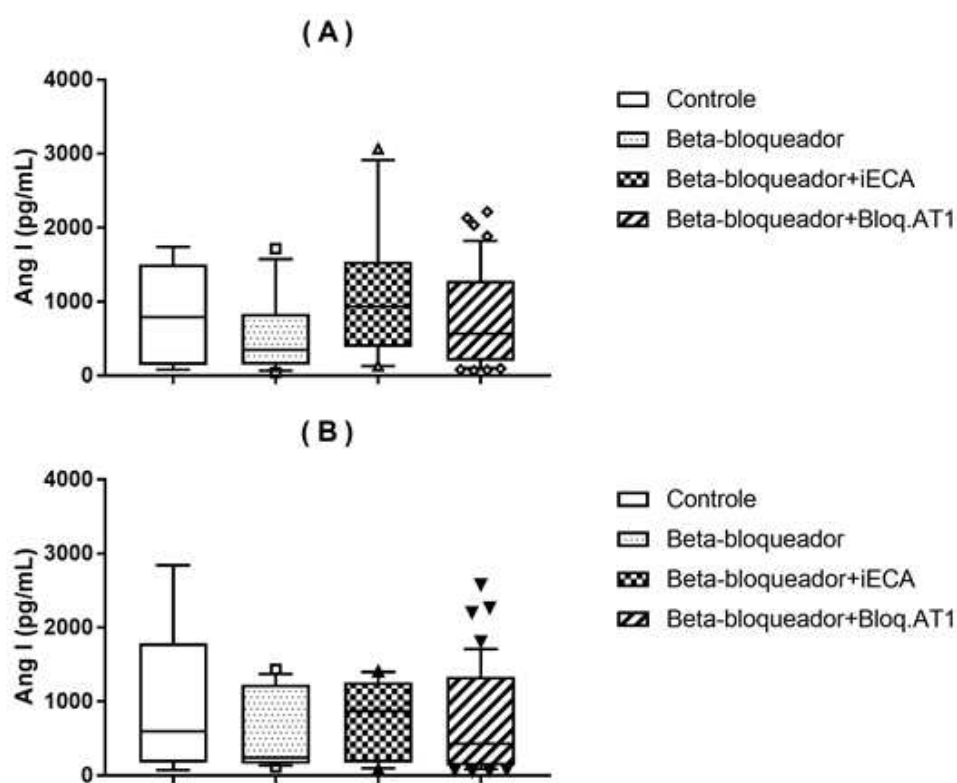


Figura 10 - Comparação da concentração plasmática de Ang I entre os grupos estudados (Controle  $n=9$ ; Beta-bloqueador  $n=15$ ; Beta-bloqueador+iECA  $n=10$ ; Beta-bloqueador+Bloq.AT1  $n=52$ ) B) antes (Pré-HD; A) e após uma sessão de hemodiálise (Pós-HD; B). Valores expressos em mediana com intervalo de variação interquartílica. Utilizou-se teste *Kruskal-Wallis*, adotando um nível de significância com  $p>0,05$ .

### 6.13 Concentração Plasmática de Ang II nos Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD

A figura 11 apresenta os valores da concentração plasmática de Ang II nos grupos estudados antes e após uma sessão de hemodiálise. Como pode ser observado, houve uma redução na concentração plasmática da Ang II no período Pré-HD quando comparado ao Pós-HD nos grupos Beta-bloqueador+iECA (Pré-HD:  $\log 0,4178 \pm 1,353$  vs. Pós-HD:  $\log 0,07184 \pm 0,8113$ ,  $p=0,0386$  pg/mL) e Beta-bloqueador+Bloq.AT1 (Pré-HD:  $\log 0,7347 \pm 0,9054$  vs. Pós-HD:  $\log 0,3723 \pm 1,137$ ,  $p=0,0023$  pg/mL;). Nos demais grupos estudados não houve diferença: Controle (Pré-HD:  $\log 0,6879 \pm 0,4278$  vs. Pós-HD:  $\log 1,206 \pm 0,9837$ , pg/mL); Beta-bloqueador (Pré-HD:  $\log 0,613 \pm 0,726$  vs. Pós-HD:  $\log 0,03456 \pm 0,6053$ , pg/mL).

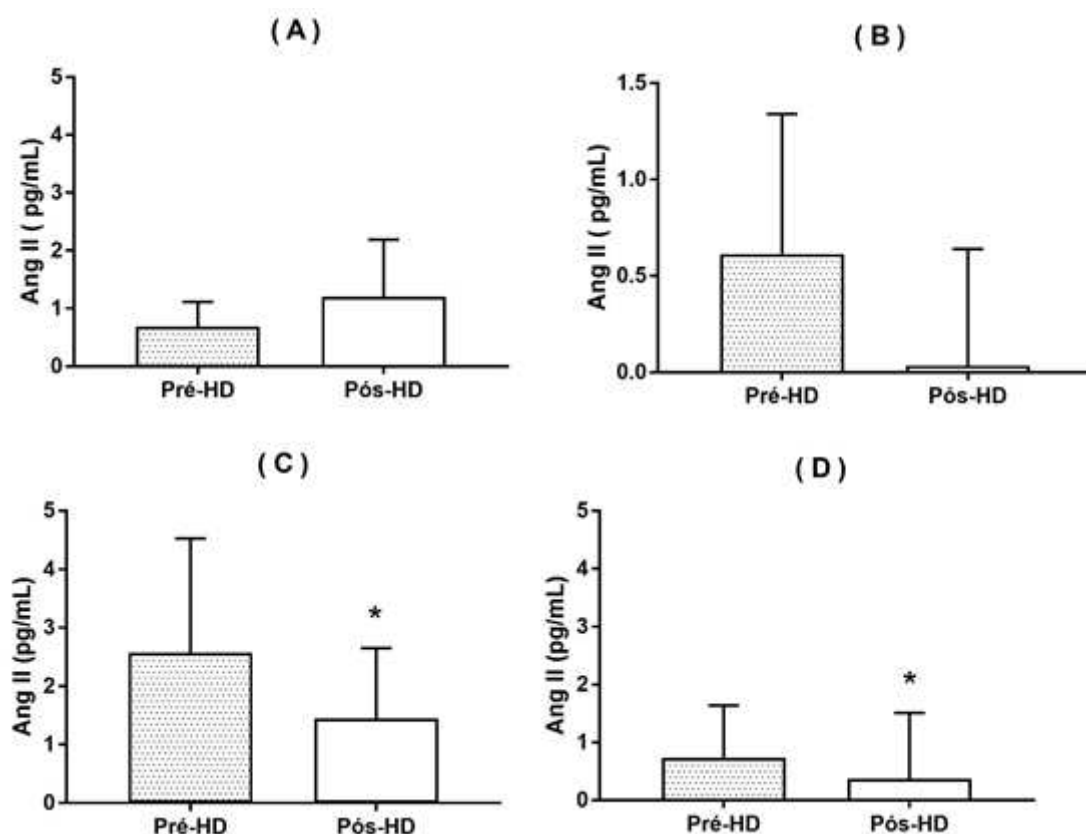


Figura 11 – Análise da concentração plasmática de Ang II nos períodos Pré-HD e Pós-HD no grupo Controle ( $n=7$ ; A), Beta-bloqueador ( $n=10$ ; B), Beta-bloqueador+iECA ( $n=9$ ; C), Beta-bloqueador+Bloq. AT1 ( $n=44$ ; D). Valores expressos em média do logaritmo natural  $\pm$  desvio padrão da média. Utilizou-se teste de *t de student* pareado \*  $p > 0,05$  vs. Pré-HD.

#### 6.14 Comparação da Concentração Plasmática de Ang II entre os Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD

A figura 12 apresenta a comparação dos valores das concentrações plasmáticas da Ang II no período Pré-HD e Pós-HD entre os grupos estudados. Como pode ser observado, não houve diferença entre os grupos no período Pré-HD: Controle 1,667 (1,33-3) pg/mL; Beta-bloqueador 2,0 (1,5-4) pg/mL; Beta-bloqueador+iECA 1,917 (0,9166-4,458) pg/mL; Beta-bloqueador+Bloq. AT1 1,833 (1-4,33) pg/mL. Similarmente, a comparação dos valores da concentração da Ang II plasmática Pós-HD não mostrou diferença entre os grupos: Controle 2,33 (1,708-9,583) pg/mL; Beta-bloqueador 1,167(0,833-2,333) pg/mL; Beta-bloqueador+iECA 1,0 (0,5-2,167) pg/mL; Beta-bloqueador+Bloq.AT1 1,333(0,6666-2,667) pg/mL.

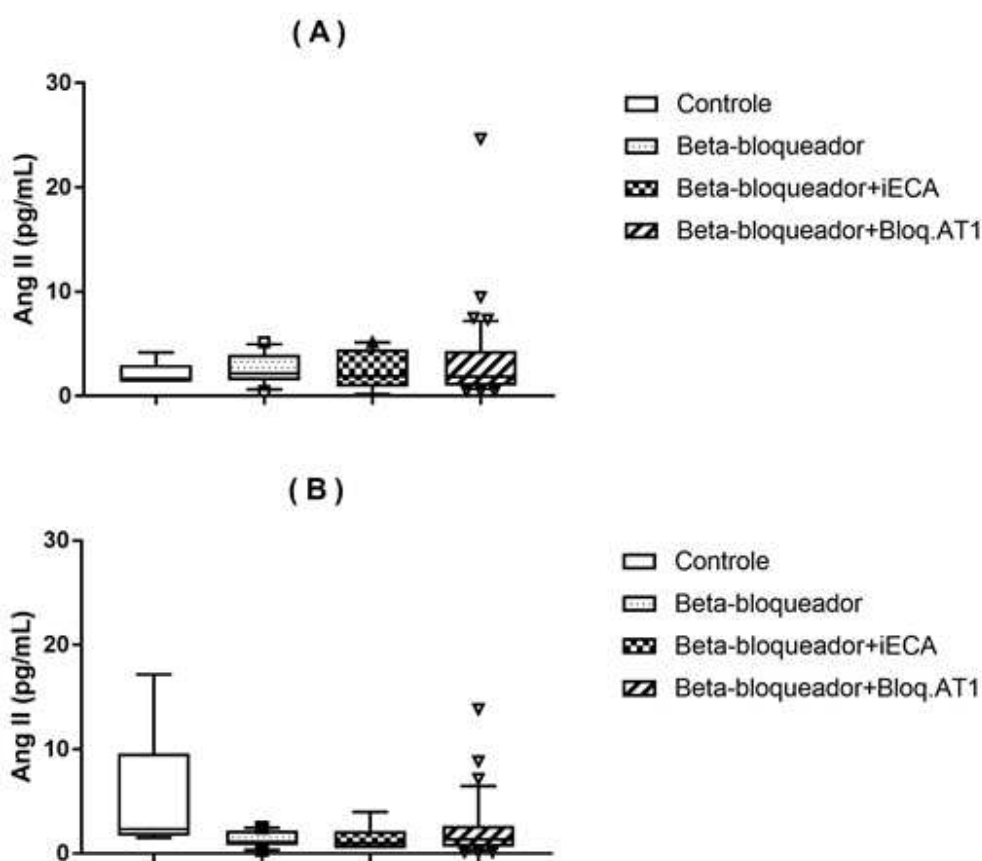


Figura 12 – Comparação da concentração plasmática de Ang II entre os grupos estudados (Controle  $n=9$ ; Beta-bloqueador  $n=15$ ; Beta-bloqueador+iECA  $n=10$ ; Beta-bloqueador+AT1  $n=52$ ) antes (Pré-HD; A) e após uma sessão de hemodiálise (Pós-HD; B). Valores expressos em mediana com intervalo de variação interquartilica. Utilizou-se teste de *Kruskal-Wallis* adotando um nível de significância com  $p>0,05$ .

### 6.15 Concentração Plasmática de Ang-(1-7) nps Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD

A figura 13 apresenta os valores das concentrações plasmáticas de Ang-(1-7) antes e após uma única sessão de hemodiálise nos grupos estudados. Como pode ser observado, não houve diferença em nenhum dos grupos: Controle Pré-HD: 3,667 (2,5-9) vs. Pós-HD: 5,5 (3-40) pg/mL; Beta-bloqueador Pré-HD: 3,417 (2,375-4,791) vs. Pós-HD: 2,333 (1,208-5,583) pg/mL; Beta-bloqueador+iECA Pré-HD: 8 (2,375-16,83) vs. Pós-HD: 4,583 (2,292-9,833) pg/mL; Beta-bloqueador+Bloq.AT1 Pré-HD: 4,666 (2,167-8,166) vs. Pós-HD: 4,666 (2,667-8,916) pg/mL.

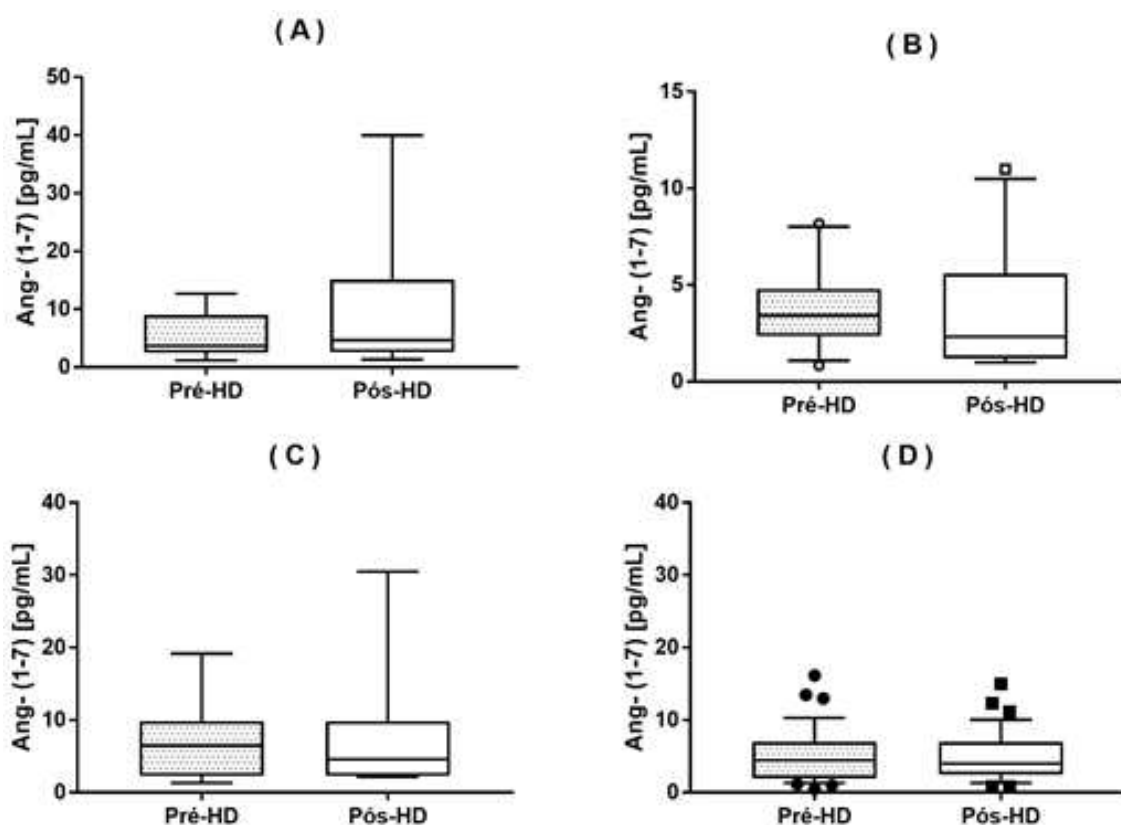


Figura 13 – Análise da concentração plasmática de Ang-(1-7) Pré-HD e Pós-HD nos grupos Controle ( $n=9$ ; A), Beta-bloqueador ( $n=15$ ; B), Beta-bloqueador+iECA ( $n=10$ ; C), Beta-bloqueador+Bloq. AT1( $n=52$ ; D). Valores expressos em mediana com intervalo de variação interquartílica. Utilizou-se teste de *Wilcoxon* pareado adotando um nível de significância com  $p>0,05$ .

### 6.16 Comparação das Concentrações Plasmáticas de Ang-(1-7) entre os Grupos Estudados no Período Pré-HD e Pós-HD

A figura 14 apresenta a comparação dos valores das concentrações plasmáticas da Ang-(1-7) entre os grupos estudados antes e após uma sessão de hemodiálise. Como pode ser observado, não houve diferença entre os grupos no período Pré-HD: Controle 3,667 (2,5-9) pg/mL; Beta-bloqueador 3,167 (2,417-4,583) pg/mL; Beta-bloqueador+iECA 6,5 (1,833-14,5) pg/mL; Beta-bloqueador+Bloq. AT1 4,416 (2-8) pg/mL. Similarmente, a comparação dos valores Pós-HD da concentração da Ang-(1-7) plasmática não mostrou diferença entre os grupos: Controle 6,166 (3,208-53,37) pg/mL; Beta-bloqueador 2,5 (1,25-5,333) pg/mL; Beta-bloqueador+iECA 4,583 (2,292-9,833) pg/mL; Beta-bloqueador+Bloq. AT1 4,25 (2,542-8,5) pg/mL.

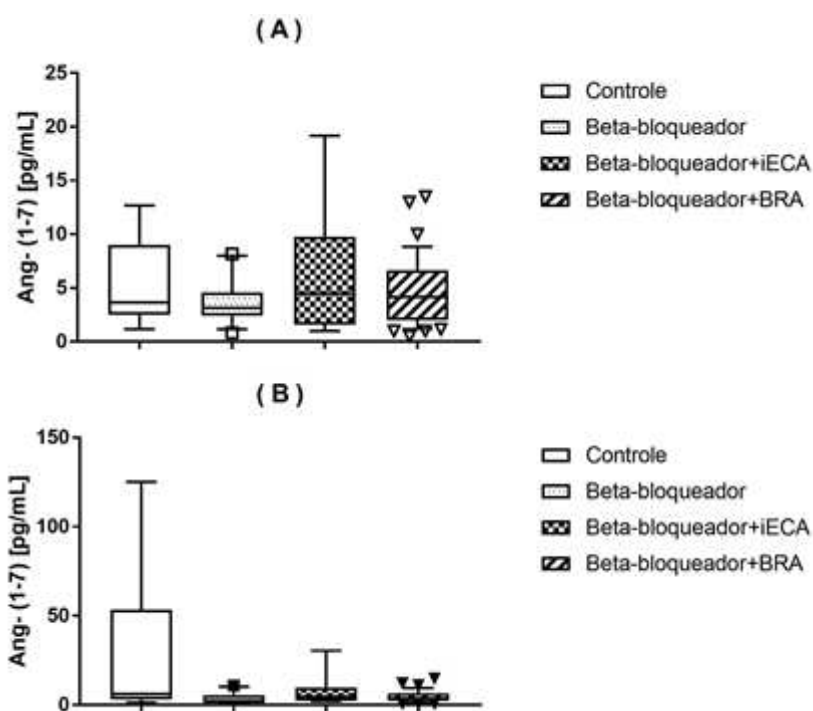


Figura 14 – Comparação da concentração plasmática da Ang-(1-7) entre os grupos estudados Controle ( $n=9$ ); Beta-bloqueador ( $n=16$ ); Beta-bloqueador+iECA ( $n=10$ ); Beta-bloqueador+AT1 ( $n=52$ ); antes (Pré-HD; A) e após uma sessão de hemodiálise (Pós-HD; B). Valores expressos em mediana com intervalo de variação interquartílica. Utilizou-se teste de *Kruskal-Wallis* adotando um nível de significância com  $p>0,05$ .





## **7 DISCUSSÃO**

### **7.1 Características clínicas e bioquímicas**

As características clínicas e bioquímicas dos 87 pacientes em hemodiálise foram listadas na Tabela 1. Os parâmetros clínicos: idade e peso seco e os parâmetros bioquímicos: hemoglobina, cálcio, fósforo, ureia pré-hemodiálise e ureia pós- hemodiálise foram semelhantes entre os grupos. O potássio sérico, no entanto, mostrou-se mais elevado no grupo Beta-bloqueador+iECA quando comparado ao grupo Controle. O uso dos iECA são efetivos no tratamento de diversas doenças comumente observadas nos pacientes em hemodiálise (hipertensão, insuficiência cardíaca, doença isquêmica miocárdica), contudo seu uso é associado a efeitos colaterais importantes tais como aumento no potássio sérico. Efeito este que pode ser explicado pela redução na excreção do potássio mediada via aldosterona. Devido ao alto risco de hipercalemia nos pacientes em hemodiálise, vários estudos observacionais têm demonstrado a associação entre hipercalemia e eventos adversos (KOVESDY et al., 2007; ISEKI et al., 1996; YUSUF et al., 2016). Movilli et al.(2018), avaliaram o efeito do uso de bloqueadores do SRA sobre o potássio sérico em 112 pacientes anúricos em hemodiálise. A proporção dos pacientes com potássio sérico normal reduziu de 82 para 29% e a prevalência da hipercalemia aumentou de 18 para 52% após o início da terapia com iECA/BRA. Os autores concluíram que o uso de iECA/BRA foi associado ao aumento do risco de hipercalemia nestes pacientes, corroborando os resultados observados em nosso trabalho.

### **7.2 Atividade da ECA**

Em nosso estudo realizamos a comparação de componentes do SRA, antes e logo após uma sessão de hemodiálise. Análises desse tipo nos permitem elucidar a repercussão da sessão de hemodiálise sobre esse sistema; Nesse sentido, possibilitando uma conduta clínica mais efetiva no controle dos efeitos da terapia renal substitutiva (hemodiálise) em pacientes DRCT.

Ao avaliarmos a atividade da ECA no período Pré-HD e Pós-HD, evidenciamos aumento na atividade da enzima após a sessão de hemodiálise. Por conseguinte, quando estratificamos estes pacientes em grupos de acordo com os fármacos utilizados, de maneira similar ao achado anterior, os grupos que fizeram utilização de fármacos apresentaram aumento da atividade da enzima em decorrência da sessão de hemodiálise. Entretanto, esta

alteração não foi demonstrada no grupo controle. Estes dados nos permitem especular que a hemodiálise pode repercutir sobre o efeito do medicamento. Por fim, a comparação da atividade da ECA entre os grupos, como esperado se mostrou significativamente menor no grupo que fazia utilização dos inibidores da ECA. Sendo este efeito mantido após a sessão de hemodiálise.

Nossos resultados corroboram com estudos prévios e demonstram que o uso de fármacos bloqueadores beta adrenérgicos, inibidores da ECA e bloqueadores do receptor AT1 estão associados com alterações significativas dos componentes do SRA.

Desde a década de 70, vários estudos vêm evidenciando aumento na atividade da ECA em pacientes em hemodiálise. Patel et al. (1979), avaliaram a atividade sérica da ECA de 19 pacientes em hemodiálise, demonstrando aumento da atividade da enzima desses pacientes comparados aos controles saudáveis. Similarmente, Silverstein et al. (1984), mostraram aumento da atividade da ECA pré diálise de pacientes em hemodiálise de manutenção comparado com adultos saudáveis. Bem como Miura et al. (1984), evidenciaram aumento da atividade desta enzima em pacientes DRCT em hemodiálise comparados a controle saudáveis. Estes estudos mostram em conjunto que pacientes em hemodiálise apresentam aumento na atividade da ECA. Desta forma, a investigação da repercussão da hemodiálise na atividade da enzima torna-se de grande importância clínica. Neste sentido, Nielsen et al. (1985), evidenciaram aumento da atividade da ECA após hemodiálise em 14,3% do total de pacientes DRCT em hemodiálise avaliados. Além disso, Koo et al. (1987), avaliaram 30 pacientes em hemodiálise e 24 controles saudáveis, demonstrando que a atividade plasmática da ECA foi maior nos pacientes em hemodiálise após sessão. Estes achados corroboram com os resultados do nosso estudo. Contrariamente, Letizia et al. (1995), avaliaram a atividade da ECA em 14 pacientes em hemodiálise, 8 pacientes transplantados e 19 sujeitos saudáveis. Os pesquisadores observaram aumento da atividade enzimática nos pacientes transplantados e naqueles em hemodiálise quando comparados aos sujeitos saudáveis. No entanto, ao analisar a atividade da ECA antes e após sessão de hemodiálise, não observou aumento da atividade enzimática no período pós dialítico.

Nossos dados nos permitem afirmar que tanto a doença renal crônica terminal, quanto a hemodiálise aumenta a atividade da ECA. Entretanto, os pacientes avaliados neste estudo, faziam utilização de diferentes fármacos com efeito sobre o sistema cardiovascular e SRA, fazendo-se necessário a análise da repercussão dos mesmos sobre a atividade da ECA, que conforme esperávamos se mostrou diminuída no grupo Beta-bloq+iECA. Entretanto, neste grupo o efeito inibitório da enzima se mostrou reduzido no período Pós-HD.

Recentemente, Anguiano et al. (2015) avaliaram a atividade plasmática da ECA em 546 pacientes em hemodiálise, 1458 pacientes renais crônicos não dialíticos sem história de doença cardiovascular e 568 controles saudáveis. O estudo evidenciou aumento significativo da atividade enzimática nos pacientes em hemodiálise quando comparados aos renais crônicos não dialíticos e aos controles saudáveis. Similarmente aos nossos achados, esses pesquisadores demonstraram menor atividade da ECA nos pacientes que utilizavam iECA comparado aos que não utilizavam. A redução da atividade enzima não foi observada nos pacientes que utilizavam Bloq.AT1. Chung-Wei et al. (2018), avaliaram a atividade plasmática da ECA em 360 pacientes em hemodiálise (119 com DCV e 241 sem DCV) e 50 sujeitos saudáveis. Os autores reportaram aumento da atividade enzimática após sessão de hemodiálise nos pacientes dialíticos com DCV em relação aos pacientes dialíticos sem DCV. Embora, o estudo não tenha informado sobre a utilização de fármacos e suas classes, podemos inferir que os pacientes com doença cardiovascular, neste caso entendido como presença de sinais e sintomas relacionados ao aparelho cardiovascular e/ou história prévia de DCV (incluindo doença arterial coronariana com ou sem infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, acidente vascular cerebral prévio e hipertensão) sabidamente, utilizam fármacos bloqueadores do SRA (Sica *et al*, 1999; Garg *et al* 1995).

Ao longo dos anos, várias hipóteses foram formuladas na tentativa de elucidar os mecanismos responsáveis pelo aumento da atividade da ECA observado nos pacientes em hemodiálise crônica. Ainda hoje, não está totalmente elucidado se este aumento ocorre em decorrência da doença renal crônica *per si*, e/ou da hemodiálise e/ou das doenças associadas. Miura et al. (1984), baseando-se em estudos que reportavam a aceleração do processo aterosclerótico em pacientes em hemodiálise (LINDER; CHARRA; SHERRARD, 1974), especulou que o dano endotelial associado a doença aterosclerótica, poderia ser responsável pelo aumento da atividade da ECA observado neste grupo de pacientes. Nielsen et al. (1985), sugeriram que o aumento da atividade da ECA após sessão de hemodiálise seria devido ao sequestro de leucócitos nos vasos pulmonares, mediado por complemento que ocorreria durante sessão de hemodiálise, esse acúmulo de leucócitos no endotélio levaria à injúria endotelial e edema intersticial e subsequentes anormalidades pulmonares. Além disso, Docci et al. (1988), avaliaram 20 pacientes em hemodiálise, comparando o efeito de diferentes membranas dialisadoras na atividade da ECA. Os pesquisadores observaram que o aumento na atividade enzimática ocorreu em todos os pacientes, independente das membranas utilizadas. Chung-Wei et al. (2018) após demonstrar elevação da ECA nos pacientes em hemodiálise com DCV comparado aos pacientes em hemodiálise sem DCV e controles

saudáveis, especulou que a elevação da atividade enzimática possivelmente seria causada por dano endotelial vascular, com consequente liberação desta enzima no sangue. Nosso trabalho não realizou estratificação dos pacientes em relação às DCV. Pressupomos que os pacientes em uso de fármacos bloqueadores do SRA bem como bloqueadores beta adrenérgicos, possuam DCV associadas que justifiquem o uso destes fármacos, fortalecendo a hipótese que o aumento da ECA observado nos pacientes em hemodiálise seja devido ao dano endotelial vascular. Do ponto de vista clínico, o uso de bloqueadores do SRA, tais como iECA e BRA têm sido indicados nos casos de hipertensão arterial sistêmica, insuficiência cardíaca, infarto agudo do miocárdio, nefropatia diabética e disfunção ventricular esquerda (SICA; GEHR, 1999; GIATRAS; LAU; LEVEY, 1997; NAVIS; DE JONG; DE ZEEUW, 1998; GARG; YUSUF, 1995) e tem sido associados à redução da morbi-mortalidade. Takahashi et al. (2006) mostraram que o uso de BRA em 80 pacientes em hemodiálise sem DCV, foi benéfico em reduzir eventos cardiovasculares quando comparado aos pacientes que não utilizaram medicamentos. Nesse sentido, Suzuki et al. (2008) avaliaram 360 pacientes hipertensos em hemodiálise e mostraram redução de 49% no risco de morte por causas cardiovasculares quando comparados pacientes em uso de BRA com pacientes controle (aqueles que não utilizavam BRA). Em contraposição, meta-análise (incluindo os estudos citados acima) concluiu que o uso iECA ou BRA não foi associado a redução de risco de eventos cardiovasculares futuros (TAI et al., 2010). No entanto, algumas meta-análises tem evidenciado que o uso de iECA ou BRA tem sido associado a significativa redução do índice de massa do ventrículo esquerdo (TAI DJ et al., 2010; YANG et al., 2013), importante preditor de risco cardiovascular. Apesar disso, o real efeito destes fármacos sobre os componentes do SRA nos pacientes em hemodiálise ainda é desconhecido, sendo alguns destes efeitos, demonstrados em nosso trabalho.

### **7.3 Atividade da ECA2**

O aumento da atividade da ECA, conforme apresentamos anteriormente, apresenta implicações clínicas, estando associado a diversas patologias cardiovasculares. Sendo assim, o uso de fármacos inibidores desta enzima apresenta aplicabilidade prática uma vez que são utilizados no tratamento destas doenças (SICA; GEHR, 1999; GIATRAS; LAU; LEVEY, 1997; NAVIS; DE JONG; DE ZEEUW, 1998; GARG; YUSUF, 1995). De outro modo, os estudos que investigaram a atividade da ECA 2 circulante são conflitantes e ainda não chegaram a uma conclusão acerca de sua repercussão clínica.

Nossos resultados mostraram que a atividade da ECA2 diminuiu após a realização de uma sessão de hemodiálise. Ao estratificarmos os pacientes de acordo com os fármacos utilizados, observamos que esta redução em decorrência da hemodiálise ocorreu apenas no grupo Beta-bloqueador+Bloq.AT1. Ainda, embora os demais grupos tenham apresentado uma tendência a diminuição da atividade desta enzima, essas diferenças não foram significativas. Interessantemente, observamos que a atividade enzimática pré dialítica da ECA2 foi maior no grupo Beta-bloqueador+Bloq.AT1, quando comparado ao grupo Beta-bloqueador sugerindo que o(s) fármaco(s) utilizados interfere(m) na modulação da atividade enzimática. Além disso, podemos especular que o bloqueio do receptor AT1 pode desviar o substrato preferencial da ECA 2, Ang II, aumentando a sua atividade catalítica (VICKERS et al.,2002).

Pequeno número de estudos avaliou a atividade da ECA2 circulante em humanos. Nossos resultados são consistentes com achados prévios e mostraram que o uso de fármacos bloqueadores do receptor AT1 está relacionados com alterações dos componentes desta enzima pertencente ao SRA. Neste sentido, Roberts MA et al. (2013), avaliaram a atividade plasmática da ECA2 em 59 pacientes renais crônicos não dialíticos e 100 pacientes em hemodiálise. Os pesquisadores demonstraram que a atividade da ECA2 estava reduzida nos pacientes em hemodiálise quando comparados aos pacientes não dialíticos. Anguiano et al. (2015), avaliaram a atividade da ECA2 plasmática em 546 pacientes em hemodiálise e 1458 pacientes renais crônicos não dialíticos sem história prévia de doença cardiovascular e 568 controles saudáveis. O estudo evidenciou redução da atividade plasmática da ECA2 nos pacientes em hemodiálise e renais crônicos não dialíticos quando comparados aos controles saudáveis. Corroborando com esses achados, Chung-Wei et al. (2018), avaliaram a atividade plasmática da ECA2 em 360 pacientes em hemodiálise (119 com DCV e 241 sem DCV) e 50 sujeitos saudáveis, e os resultados apresentaram diminuição da atividade da ECA2 nos pacientes em hemodiálise comparados com os controles saudáveis. Ademais, a redução da ECA2 foi mais pronunciada nos pacientes em hemodiálise com DCV em relação aos pacientes em hemodiálise sem DCV. Quando avaliada a atividade da ECA2 antes e após sessão de hemodiálise, observou-se que a ECA2 diminuiu após a realização de sessão de hemodiálise no grupo com DCV.

Apesar de não estar estabelecido a relevância clínica das alterações de atividade da ECA2 circulante, visto que se trata de uma enzima expressada principalmente em tecidos (WY SOCKI; BATLLE, 2013), alguns autores têm levantado hipóteses na tentativa de explicar o papel desta alteração na atividade dessa enzima. Roberts MA et al. (2013), considerando a doença cronicidade da doença renal, sugeriram que a diminuição na atividade

da ECA2 ocorreria em virtude da menor geração de ECA2 pelos rins. Além disso, Chung-Wei et al. (2018), especularam que durante a sessão de hemodiálise ocorreria a remoção de inibidores (LEW et al., 2008) ou ativadores endógenos da ECA2. A hemodiálise poderia alterar os níveis destes inibidores ou ativadores, com consequente aumento ou diminuição da atividade enzimática. Sendo assim, no estudo ora proposto, nossos resultados suportam a especulação de que a hemodiálise removeria ativadores endógenos da ECA2, uma vez que observamos a redução da atividade enzimática após sessão de hemodiálise.

## **7.4 Concentração Plasmática das Angiotensinas**

A repercussão do SRA em pacientes DRCT em hemodiálise é de fundamental importância para compreensão do envolvimento deste sistema na evolução da doença. Contudo, o número limitado de estudos envolvendo tais aspectos, restringe nosso entendimento, impedindo a tomada de condutas clínicas que minimizem o impacto de sua desregulação.

### **7.4.1 Angiotensina I**

Para analisar os níveis plasmáticos de Ang I, Ang II e Ang-(1-7) utilizamos a espectrometria de massas. Importante ressaltar, que poucos estudos utilizaram essa mesma técnica, que apresenta grande sensibilidade e especificidade neste tipo de dosagem (ALI et al., 2014). Sendo assim, não encontramos nenhuma alteração nos níveis de Ang I em decorrência da sessão de hemodiálise ou do tratamento medicamentoso adotado por parte dos pacientes em nosso estudo. Medina et al. (1972), avaliaram 16 pacientes DRCT em HD, encontrando concentração plasmática normal ou diminuída de Ang I nos pacientes que apresentavam níveis pressóricos controlados, comparados com os hipertensos descontrolados. Além disso, observou que o aumento na concentração plasmática de Ang I observado nos pacientes com descontrole pressórico foi revertido após realização de nefrectomia total bilateral. Apesar de estudar pacientes DRCT em hemodiálise, esse estudo não avaliou a repercussão da sessão hemodiálise ou dos medicamentos utilizados.

Em nosso trabalho, a comparação da concentração plasmática Pré-HD de Ang I entre os grupos, não apresentou diferença estatística, entretanto, os resultados mostraram tendência a serem mais elevados nos grupos Controle e Beta-bloqueador+iECA quando comparados aos demais grupos. Nesse sentido, Kovarick et al. (2015) demonstraram que

pacientes DRCT em hemodiálise em uso de iECA, exibiram maiores concentrações plasmáticas de Ang I no período pré dialítico quando comparados a pacientes em uso de Bloqueadores do Receptor AT1. Já os pacientes que não faziam uso de fármacos bloqueadores do SRA, apresentaram concentrações plasmáticas de Ang I similares a controles saudáveis.

#### 7.4.2 Angiotensina II

Ao analisarmos a concentração da Ang II no período Pré-HD e Pós-HD, evidenciamos diminuição deste hormônio após sessão de hemodiálise. Chung-Wei et al. (2018), avaliaram a concentração plasmática da Ang II em 360 pacientes em hemodiálise (119 com DCV e 241 sem DCV) e 50 sujeitos saudáveis e reportaram um aumento da concentração de Ang II no período Pós-HD nos pacientes dialíticos com DCV. No entanto, quando analisado os pacientes sem DCV, não foi encontrado diferença nos níveis de Ang II em decorrência da sessão de hemodiálise.

Ao estratificarmos os pacientes estudados em grupos de acordo com os fármacos utilizados, observamos que a redução da concentração de Ang II no período Pós-HD, comparado com o Pré-HD, ocorreu nos grupos que utilizavam bloqueadores do SRA: Beta-bloqueadores+iECA e Beta.bloqueadores+Bloq.AT1. Estes dados nos permitem especular que o uso destes fármacos tem efeito sobre os componentes do SRA e que a hemodiálise pode repercutir sobre tais efeitos. Este achado é de suma importância para a conduta clínica, pois pode nortear ajustes nas medicações visando diminuir as alterações decorrentes do procedimento.

Por fim, ao compararmos a concentração plasmática da Ang II entre os grupos estudados no período pré e pós dialítico, observamos que não houve diferença em nenhum dos períodos analisados. Kovarik et al.(2015), observaram que os pacientes DRCT em hemodiálise que faziam uso de Bloq.AT1 apresentavam aumento na concentração plasmática de Ang II Pré-HD quando comparados a pacientes que não utilizavam bloqueadores do SRA e a controles saudáveis. No entanto, os pacientes em uso da associação iECA+Bloq.AT1, evidenciavam supressão da Ang II. Em nosso estudo, não tivemos um grupo que nos permitisse realizar essa análise, visto que o duplo bloqueio do SRA é formalmente contraindicado para a maioria dos pacientes devido aos riscos associados à combinação, tais como hipercalcemia e hipotensão (ESTERAS et al., 2015).

Apesar de nossos resultados apontarem em direção oposta ao estudo supracitado, existem poucos estudos analisando as angiotensinas nos pacientes DRCT em hemodiálise. Ademais, é necessário salientar que existem vias alternativas de formação da Ang II não dependentes da ECA (KRAMKOWSKI; MOGIELNICKI; BUCZKO, 2006).

#### 7.4.3 Angiotensina-(1-7)

Ao analisarmos a concentração da Ang-(1-7) no período Pré-HD e Pós-HD, não observamos alterações em decorrência da sessão de hemodiálise. Nossos resultados foram similares aos demonstrados por Chung-Wei et al. (2018), que ao estudarem a concentração plasmática de Ang-(1-7) em 360 pacientes em hemodiálise (119 com DCV e 241 sem DCV) e 50 sujeitos saudáveis também não observaram diferenças antes e após a sessão, tanto nos pacientes com DCV, quanto naqueles que não apresentavam DCV.

Ao compararmos a concentração plasmática de Ang-(1-7) entre os diferentes grupos estudados no período pré e pós dialítico, nossos resultados não evidenciaram diferença. Kovarik et al.(2015), ao pesquisarem a concentração plasmática de Ang-(1-7) em pacientes DRCT em hemodiálise, reportaram que os pacientes em uso de iECA apresentavam aumento na concentração plasmática de Ang-(1-7) Pré-HD quando comparados a pacientes que não utilizavam bloqueadores do SRA e controles saudáveis.

Importante salientar que as vias responsáveis pela formação da Ang-(1-7) na circulação e no rim parecem ser distintas. Na circulação, a endopeptidase neutra (NEP) parece ser uma das principais responsáveis pela formação da Ang-(1-7) a partir da Ang I ou Ang-(1-9) (CHAPPELL et al., 1998), já no tecido renal esta função seria desempenhado pela ECA2 (CHAPPELL et al., 2004). Isto nos permite compreender a ausência de alteração nas concentrações de Ang-(1-7), a despeito da diminuição da ECA 2, observados em nosso trabalho.



## 8 CONCLUSÃO

Nosso trabalho demonstrou que a hemodiálise interfere no SRA dos pacientes DRCT, aumentando a atividade da ECA, diminuindo a atividade da ECA2 e a concentração plasmática de Ang II. E ainda, que o uso de fármacos Beta-bloqueadores, inibidores da ECA e Bloqueadores do Receptor AT1 estão associados com alterações significativas dos componentes deste sistema, dentre as quais, destacamos diminuição na atividade da ECA em pacientes em uso de Beta-bloqueador associado ao iECA e aumento na atividade da ECA 2 naqueles em uso de Beta-bloqueador associado a Bloqueador do Receptor AT1.

Nossos resultados não mostraram alterações significativas nos níveis plasmáticos das angiotensinas analisadas, visto a influência de inúmeros fatores que podem decorrer sobre sua secreção e biodisponibilidade. Entretanto, está bem estabelecido que a atividade enzimática é um fator determinante para analisar a ativação/inibição de um eixo endócrino. Neste sentido, podemos concluir que em pacientes DRCT em hemodiálise, o uso dos fármacos, como os inibidores da ECA pode modular positivamente o eixo ECA2/Ang-(1-7)/Mas, aumentando sua atividade, assim como, o uso de Bloqueadores do Receptor AT1 pode diminuir a atividade do eixo ECA/Ang II/AT1. Entretanto, como a sessão de hemodiálise promoveu alterações nos componentes do SRA avaliados neste estudo, podemos especular que a terapia acarreta alterações fisiopatológicas suscitando tais modificações. Ainda, podemos especular o efeito da hemodiálise sobre a biodisponibilidade destes fármacos, visto que os efeitos dos iECA, traduzidos por modulação negativa do eixo vasoconstritor, são benéficos nesta população, apesar de serem fármacos dialisáveis, em sua maioria.

Do ponto de vista clínico, nosso estudo abre uma lacuna para discussão de possíveis mudanças de conduta relacionadas à terapia medicamentosa como por exemplo, horário de administração dos fármacos, suplementação de dose após sessão de hemodiálise, que podem beneficiar os pacientes DRCT, minimizando o impacto da doença e eficientizando o tratamento.

Por fim, enquanto perspectivas futuras, nosso estudo inicia o entendimento da modulação da hemodiálise e terapia farmacológica sobre o SRA em pacientes portadores de DRCT. Outros estudos se fazem necessários para entendermos a repercussão desses fatores no tempo, informação que nos permitirá compreender o envolvimento do SRA na progressão dessas doenças, assim como, possibilitando discutir e propor medidas efetivas das terapias farmacológicas de forma a melhorar a qualidade de vida e aumentando a sobrevida, desses pacientes.



## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. **K/DOQI clinical practice guidelines on hypertension and antihypertensive agents in chronic kidney disease**. New York: [s.n.], 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Diretrizes Clínicas para o Cuidado ao Paciente com Doença Renal Crônica – DRC no Sistema Único de Saúde**. Brasília, 2014.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. **Overview of epidemiology of cardiovascular disease**. *American journal of kidney diseases*. [S.l.], v. 45, p.8-9. apr. 2005.

XUE, Jay L. et al. Forecast of the Number of Patients with End-Stage Renal Disease in the United States to the Year 2010. **Journal Of The American Society Of Nephrology**. [S.l.], v.12, p. 2753-2758. 01 dec. 2001.

NWANKWO, Emeka; BELLO, Aminu K.; NAHAS, Meguid El. Chronic kidney disease: Stemming the global tide. **American Journal Of Kidney Diseases**. [S.l.], v.45, p. 201-208. nov. 2004.

COLLINS, Allan J. et al. US Renal Data System 2010 Annual Data Report. **American Journal Of Kidney Diseases**, [S.l.], v. 57, n. 1, jan. 2011.

~~SESSO, Ricardo de Castro Cintra et al. Chronic dialysis in Brazil – report of the Brazilian Dialysis Census, 2011. **Brazilian Journal Of Nephrology**, [S.l.], v. 34, n. 3, p.272-277. july/sept. 2012.~~

SESSO, Ricardo Cintra et al. Brazilian Chronic Dialysis Census 2014. **Brazilian Journal Of Nephrology**, [S.l.], v. 38, n. 1, p.54-61, mar. 2016.

OLIVEIRA, Marília Bahiense; ROMAO, Joao Egidio; ZATZ, Roberto. End-stage renal disease in Brazil: Epidemiology, prevention, and treatment. **Kidney International**. [S.l.], v. 68, p.82-86, ago. 2005.

THOMAS, M. C. et al. Genetic Ace2 Deficiency Accentuates Vascular Inflammation and Atherosclerosis in the ApoE Knockout Mouse. **Circulation Research**. [S.l.], v. 107, n. 7, p.888-897, 29 jul. 2010.

OUDIT, G et al. Angiotensin II-mediated oxidative stress and inflammation mediate the age-dependent cardiomyopathy in ACE2 null mice. **Cardiovascular Research**. [S.l.], v. 75, n. 1, p.29-39, 1 jul. 2007.

LOVREN, F. et al. Angiotensin converting enzyme-2 confers endothelial protection and attenuates atherosclerosis. **American Journal Of Physiology: Heart and Circulatory Physiology**. [S.l.], v. 295, n. 4, p.1377-1384, 25 jul. 2008.

Phillips MI, Schmidt-Ott KM. The Discovery of Renin 100 Years Ago. *News Physiol Sci* 1999;14: 271-274.

Neves F, Campos A. Sistema renina-angiotensina-aldosterona. In Ribeiro AB, Plavnik FL (eds). *Atualização em Hipertensão Arterial – Clínica, Diagnóstica e Terapêutica*, 2º ed. Atheneu: São Paulo, 2007, pp 92-103.

DONG, B. et al. Overexpression of ACE2 Enhances Plaque Stability in a Rabbit Model of Atherosclerosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology**, [S.l.], v. 28, n. 7, p.1270-1276, 10 apr. 2008.

HAYASHI, Norihiro et al. The counterregulating role of ACE2 and ACE2-mediated angiotensin 1–7 signaling against angiotensin II stimulation in vascular cells. **Hypertension Research**, [S.l.], v. 33, n. 11, p.1182-1185, 12 aug. 2010

FRAGA-SILVA, Rodrigo; SORG, Brian. ACE2 activation promotes antithrombotic activity. **Molecular Medicine**, [S.l.], v. 16, n. 5-6, p.210-215, may/jun. 2010.

DONOGHUE, M. et al. A novel angiotensin converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1–9. **Circulation Research**, [S.l.], v. 87, n. 5, p.1-9, sep. 2000.

TIKELLIS, C. et al. Characterization of Renal Angiotensin-Converting Enzyme 2 in Diabetic Nephropathy. **Hypertension**, [S.l.], v. 41, n. 3, p.392-397, 24 feb. 2003.

MIZUIRI, Sonoo et al. Expression of ACE and ACE2 in Individuals With Diabetic Kidney Disease and Healthy Controls. **American Journal Of Kidney Diseases**, [S.l.], v. 51, n. 4, p.613-623, apr. 2008.

TRASK, A. J. et al. Inhibition of Angiotensin-Converting Enzyme 2 Exacerbates Cardiac Hypertrophy and Fibrosis in Ren-2 Hypertensive Rats. **American Journal Of Hypertension**, [S.l.], v. 23, n. 6, p.687-693, 1 jun. 2010.

GO, Alan S. et al. Chronic Kidney Disease and the Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization. **New England Journal Of Medicine**, [S.l.], v. 351, n. 13, p.1296-1305, 23 sep. 2004.

CAREY, Robert M.; SIRAGY, Helmy M.. Newly Recognized Components of the Renin-Angiotensin System: Potential Roles in Cardiovascular and Renal Regulation. **Endocrine Reviews**, [S.l.], v. 24, n. 3, p.261-271, jun. 2003.

DINH, D.T et al. Angiotensin receptors: distribution, signalling and function. **Clinical Science**, [S.l.], v. 100, n. 5, p.481-492, may 2001.

FERREIRA, A.J; SANTOS, R.A. Cardiovascular actions of angiotensin-(1-7). **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**, [S.l.], v. 38, n. 4, p.499-507, apr. 2005.

LETIZIA, C et al. Response of serum angiotensin converting enzyme, plasma renin activity and plasma aldosterone to conventional dialysis in patients on chronic haemodialysis. **International Urology And Nephrology**, [S.l.], v. 27, n. 4, p.465-470, 1995.

TIKELLIS, Chris; BERNARDI, Stella; BURNS, Wendy C. Angiotensin-converting enzyme 2 is a key modulator of the renin–angiotensin system in cardiovascular and renal disease.

**Current Opinion In Nephrology And Hypertension**, [S.l.], v. 20, n. 1, p.62-68, jan. 2011.

ROBERTS, M. A. et al. Angiotensin-converting enzyme 2 activity in patients with chronic kidney disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, [S.l.], v. 28, n. 9, p.2287-2294, 27 mar. 2013.

PADDA, R. S. et al. Angiotensin-(1-7): A Novel Peptide to Treat Hypertension and Nephropathy in Diabetes?. **Journal Of Diabetes & Metabolism**, [S.l.], v. 6, n. 10, oct. 2015.

MIZUIRI, S.; OKASHI, Y. ACE and ACE2 in kidney disease. **World Journal Of Nephrology**, [S.l.], v. 4, n. 1, p.74-82, feb. 2015.

MALIK, U.; RAIZADA, V. Some Aspects of the Renin-Angiotensin-System in Hemodialysis Patients. **Kidney Blood Press Res**, [S.l.], v. 40, n. 6, p.614-622, 29 nov. 2015.

MARDANI, S; HEIDARI, M; NASRI, H. Renin-Angiotensin System Blockage for Reduction of Plasma Adiponectin Level in Maintenance Hemodialysis Patients: a Randomized Controlled Trial. **Iran J Kidney Dis**, [S. l.], v. 10, n. 2, p.62-67, mar. 2016.

AGARWAL, R. et al. Hypertension in hemodialysis patients treated with atenolol or lisinopril: a randomized controlled trial. **Nephrology Dialysis Transplantation**, [S.l.], v. 29, n. 3, p.672-681, 6 jan. 2014.

AGARWAL, R et al. Prevalence, treatment, and control of hypertension in chronic hemodialysis patients in the United States. **The American Journal of Medicine**, [S.l.], v. 115, n. 4, p.291-297, sep. 2003.

PATEL, Sheila K; VELKOSKA, Elena; BURRELL, Louise M. Emerging markers in cardiovascular disease: Where does angiotensin-converting enzyme 2 fit in?. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, [S.l.], v. 40, n. 8, p.551-559, 29 jul. 2013.

TIPNIS, S. R. et al. A Human Homolog of Angiotensin-converting Enzyme: cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.l.], v. 275, n. 43, p.33238-33243, 2 aug. 2000.

DONOGHUE, M et al. Heart block, ventricular tachycardia, and sudden death in ACE2 transgenic mice with downregulated connexins. **Journal Of Molecular And Cellular Cardiology**, [S.l.], v. 35, n. 9, p.1043-1053, sep. 2003.

MASSON, R. et al. Onset of Experimental Severe Cardiac Fibrosis Is Mediated by Overexpression of Angiotensin-Converting Enzyme 2. **Hypertension**, [S.l.], v. 53, n. 4, p.694-700, 16 feb. 2009.

COMMUNAL, Catherine et al. Beta1 integrins expression in adult rat ventricular myocytes and its role in the regulation of beta-adrenergic receptor-stimulated apoptosis. **Journal Of Cellular Biochemistry**, [S.l.], v. 89, n. 2, p.381-388, 15 apr. 2003.

LI, N. et al. The role of angiotensin converting enzyme 2 in the generation of angiotensin 1-7 by rat proximal tubules. **American Journal Of Physiology: Renal Physiology**, [S.l.], v. 288, n. 2, p.353-362, 7 sep. 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq Bras Cardiol**, [S.l.], v. 95, p.1-51, 2010.

INRIG, Jula K.. Intradialytic Hypertension: A Less-Recognized Cardiovascular Complication of Hemodialysis. **American Journal Of Kidney Diseases**, [S.l.], v. 55, n. 3, p.580-589, mar. 2010.

ZUCKER, I. H.; GAO, Lie. The Regulation of Sympathetic Nerve Activity by Angiotensin II Involves Reactive Oxygen Species and MAPK. **Circulation Research**, [S.l.], v. 97, n. 8, p.737-739, 14 oct. 2005.

ANGUIANO, Lidia et al. Circulating angiotensin-converting enzyme 2 activity in patients with chronic kidney disease without previous history of cardiovascular disease. **Nephrol. Dial. Transplant.**, [S.l.], v. 30, n. 7, p.1176-1185, 26 mar. 2015.

TANG, Chao-hsiun et al. Renin-angiotensin system blockade in heart failure patients on long-term haemodialysis in Taiwan. **European Journal Of Heart Failure**, [S.l.], v. 15, n. 10, p.1194-1202, oct. 2013.

CICE, Gennaro et al. Effects of Telmisartan Added to Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors on Mortality and Morbidity in Hemodialysis Patients With Chronic Heart Failure. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [S.l.], v. 56, n. 21, p.1701-1708, nov. 2010.

SHIREMAN, Theresa I. et al. Antihypertensive Medication Exposure and Cardiovascular Outcomes in Hemodialysis Patients. **American Journal Of Nephrology**, [S.l.], v. 40, n. 2, p.113-122, sep. 2014.

SILVERSTEIN, Emanuel et al. Increased Serum Angiotensin-Converting Enzyme in Chronic Renal Disease. **Nephron**, [S.l.], v. 37, n. 3, p.206-210, sep. 1984.

MIURA, Hiroshi; NAKAYAMA, Mahito; SATO, Tatsuo. Serum angiotensin converting enzyme (S-ACE) activity in patients with chronic renal failure on regular hemodialysis. **Jpn Heart J**, [S.l.], v. 25, n. 1, p.87-92, 1984.

NIELSEN, Arne Høj; KNUDSEN, Flemming; KRISTENSEN, Steen Dalby. Serum Angiotensin-Converting Enzyme Increases during Hemodialysis. **Nephron**, [S.l.], v. 40, n. 1, p.100-103, 1985.

KOO, Wan Suh et al. Changes of Plasma Angiotensin-Converting Enzyme Activity during Hemodialysis. **Korean J Intern Med**, [S.l.], v. 2, n. 1, p.62-66, 31 jan. 1987.

DOCCI, D et al. Effect of different dialyzer membranes on serum angiotensin-converting enzyme during hemodialysis. **The International Journal Of Artificial Organs**, [S.l.], v. 11, n. 1, p.28-32, 1988.

ULRICH, C. et al. Increased expression of monocytic angiotensin-converting enzyme in dialysis patients with cardiovascular disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, [S.l.], v. 21, n. 6, p.1596-1602, 1 jun. 2006.

K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis*, [S.l.], v. Suppl 2, n. 39, p. 1-246, jan. 2002.

ORTIZ, A. et al. Epidemiology, contributors to, and clinical trials of mortality risk in chronic kidney failure. Working Group of ERA-EDTA: Board of the EURECA-m Working Group of ERA-EDTA. **Lancet**, [S.l.], v. 383, n. 20, p. 1831-1843, maio. 2014

ROBERTS, MA et al. Secular trends in cardiovascular mortality rates of patients receiving dialysis compared with the general population. **Am J Kidney Dis**, [S.l.], v. 58, p. 64-72, 2011.

BUCHARLES, Sérgio Gardano et al. Assessment and management of cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. **J Bras Nefrol**, [S.l.], v. 48, p. 120-127, 2010.

ROBERTS, MA et al. Cardiovascular biomarkers in CKD: pathophysiology and implications for clinical management of cardiac disease,. **Am J Kidney Dis**, [S.l.], v. 48, p. 341-360, 2006.

SUZUKI, H. Therapeutic efficacy of renin-angiotensin blockade in patients receiving dialysis. **Ther Adv Cardiovasc Dis**, [S.l.], n. 3, p. 397-405, 2009.

TAI, DJ et al. Cardiovascular effects of angiotensin converting enzyme inhibition or angiotensin receptor blockade in hemodialysis: a meta-analysis. **Clin J Am Soc Nephrol** 2010, [S.l.], v. 5, p. 623-630, 2010.

TAKAHASHI, A. et al. Candesartan, an angiotensin II type-1 receptor blocker, reduces cardiovascular events in patients on chronic haemodialysis--a randomized study. . **Nephrol Dial Transplant**, [S.l.], v. 21, p. 2507-2512, 2006.

SHIREMAN, T. et al. Comparative Effectiveness of Renin-Angiotensin System Antagonists in Maintenance Dialysis Patients. **Kidney Blood Press Res**, [S.l.], v. 41, p. 873-885, 2016.

ISEKI, K. et al. Effects of angiotensin receptor blockade (ARB) on mortality and cardiovascular outcomes in patients with long-term haemodialysis: a randomized controlled trial. **Nephrol Dial Transplant**, [S.l.], v. 28, p. 1579-1589, 2013.

KDIGO 2012 Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. Suppl 2013; 3:1-150. **Kidney Int**, [S.l.], n. 3, p. 1-150, 2013.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2016. **J Bras Nefrol**, [S.l.], v. 39, n. 3, p. 261-266, 2017.

ZANNAD, F. et al. Prevention of cardiovascular events in end-stage renal disease: results of a randomized trial of fosinopril and implications for future studies. **Kidney Int**, [S.l.], v. 70, p. 1318-1324, 2006.

PATEL, R.; ANSARI, A. Serum angiotensin converting enzyme activity in patients with chronic renal failure on long term hemodialysis. **Clin Chim Acta**, [S.l.], v. 92, n. 3, p. 491-495, jan. 1979.

SILVERSTEIN, E. et al. Silverstein E, Brunswick J, et al. Increased serum angiotensin-converting enzyme in chronic renal disease. **Nephron**, [S.l.], v. 37, p. 206-210, jan. 1984.

LENFANT, C. et al. Joint National Committee on the Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. Seventh report of the Joint National Committee on the Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC 7): resetting the hypertension sails. **Hypertension**, [S.l.], v. 41, p. 1178-9, 2003.

JAMES, PA et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). **JAMA**, [S.l.], v. 311, p. 507-20, jan. 2014.

SICA, DA et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. In: Issa JL, Black HR, editors. **American Heart Association**, [S.l.], v. 311, p. 426-9, jan. 2003.

PHILLIPS, MI; SCHMIDT-OTT, KM. . The Discovery of Renin 100 Years Ago. **News Physiol Sci** , [S.l.], v. 14, p. 271-274, 1999.

NEVES, F.; CAMPOS, A. Sistema renina-angiotensina-aldosterona. In: **Atualização em Hipertensão Arterial ? Clínica, Diagnóstica e Terapêutica** . 2º ed.. ed. São Paulo: Atheneu, 2007. p. 92-103.

VON LUTTEROTTI, N. et al. Renin is not synthesized by cardiac and extrarenal vascular tissues. A review of experimental evidence. **Circulation** , v. 89, p. 458-470, jan. 1994.

VICKERS, C. et al. Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzymes-related carboxypeptidase. **Journal of Biological Chemistry** , [S.l.], v. 277, n. 17, p. 14838-14843, 2002.

CHAPPELL, Mark C. Nonclassical renin-angiotensin system and renal function. **Comprehensive Physiology** , [S.l.], v. 2, n. 4, p. 2733-52, 2012.

CHAPPELL, Mark C. et al. Metabolism of angiotensin-(1-7) by angiotensin converting enzyme. **Hypertension** , [S.l.], v. 31, p. 362-367, 1998.

FERRARIO, CM. ACE2: more of Ang-(1-7) or less Ang II?. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, [S.l.], v. 20, n. 1, p. 1-6, 2011.

REUDELHUBER, T.; CATANZARO, DP. Molecular biology of renin and regulation of its gene. In: **Textbook of Nephro-Endocrinology** . New York: Elsevier, 2009. p. 135-145.

HSUEH, WA; BAXTER, JD. Human prorenin. **Hypertension** , [S.l.], v. 17, p. 469-479, 1991.

ZHUO, L. et al. New frontiers in the intrarenal renin-angiotensin system: a critical review of classical and new paradigms. **Frontiers in Endocrinology** , [S.l.], v. 4, p. 166, 2013.



- CAMPBELL, DJ. Critical Review of Prorenin and (Pro)renin Receptor Research. **Hypertension** , [S.l.], p. 1259-1264, 2008.
- MORGAN, L. et al. Angiotensinogen: molecular biology, biochemistry and physiology. **Int J Biochem Cell Biol** , [S.l.], v. 28, n. 11, p. 1211-1222, 1996.
- CORVOL, P. et al. Recent advances in knowledge of the structure and function of the angiotensin I converting enzyme. **J Hypertens Suppl** , [S.l.], v. 13, p. S3-10, 1995.
- BURRELL, LM et al. ACE2, a new regulator of the renin-angiotensin system. **Trends Endocrinol Metab** , [S.l.], v. 15, p. 166-169, 2004.
- SANTOS, RA; CAMPAGNOLE-SANTOS, MJ; ANDRADE, SP. Angiotensin-(1-7): na update. **Regul Pept** , [S.l.], v. 91, p. 45-62, 2000.
- TIKELLIS, C. et al. ACE2 deficiency modifies renoprotection afforded by ACE inhibition in experimental diabetes. **Diabetes** , [S.l.], v. 57, p. 1018-1025, 2008.
- CRACKOWER, MA et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. **Nature** , [S.l.], v. 417, n. 15, p. 822-828, 2002.
- YE, M. et al. Glomerular localization and expression of angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin converting enzyme: implications for albuminuria in diabetes. **J Am Soc Nephrol**, [S.l.], v. 17, n. 16, p. 3067-3075, 2006.
- SOLER, MJ et al. ACE2 inhibition worsens glomerular injury in association with increased ACE expression in streptozotocin-induced diabetic mice. **Kidney Int** , [S.l.], v. 72, p. 614-623, 2007.
- OUDIT, GY et al. Loss of angiotensin converting enzyme-2 leads to the late development of angiotensin II-dependent glomerulosclerosis. **Am J Pathol** , [S.l.], v. 168, p. 1808-1820, 2006.
- LAMBERT, DW et al. Tumor necrosis factor  $\alpha$  convertase (ADAM17) mediates regulated ectodomain shedding of the severe-acute respiratory syndrome-coronavirus (SARS-CoV) receptor, angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2). **J Biol Chem** , [S.l.], v. 280, p. 30113-30119, 2005.
- LEW, RA et al. Characterization of angiotensin converting enzyme<sup>2</sup> (ACE2) in human urine.. **Int J Pept Res Ther** , [S.l.], v. 12, p. 283-289, 2006.
- LEW, RA et al. Angiotensin converting enzyme 2 catalytic activity in human plasma is masked by an endogenous inhibitor. **Exp Physiol** , [S.l.], v. 93, p. 685-693, 2008.
- SORO-PAAVONEN, A. et al. Circulating ACE2 activity is increased in patients with type 1 diabetes and vascular complications. **J Hypertens** , [S.l.], v. 30, p. 375-383, 2012.
- ROBERTS, MA et al. Angiotensin converting enzyme 2 activity in patients with chronic kidney disease. **Nephrol Dial Transplant** , [S.l.], v. 28, p. 2287-2294, 2013.

- KIM, S.; IWAHO, H. Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. **Pharmacol Ver** , [S.l.], v. 52, p. 11-34, jan. 2000.
- DE GASPARO, M. et al. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. **Pharmacol Rev** 2000 , [S.l.], v. 52, n. 3, p. 415-472, set. 2000.
- ZIMMERMAN, D.; BURNS, KD. Angiotensin-(1-7) in kidney disease: a review of the controversies. **Clin Sci** , Lond, v. 123, n. 6, p. 333-346, set. 2012.
- PINHEIRO, SV; SIMÕES E SILVA, AC. Angiotensin converting enzyme 2, Angiotensin-(1-7), and receptor MAS axis in the kidney012;2012:414128. **International Journal of Hypertension** , [S.l.], v. 2012, p. 414128, fev. 2012.
- SANTOS, RAS; FERREIRA, AJ; SIMOES, ESAC. Recent advances in the angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin-(1-7)-Mas axis. **Exp Physiol** , [S.l.], v. 93, p. 519-527, fev. 2008.
- SAMPAIO, WO et al. Angiotensin-(1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways. **Hypertension** , [S.l.], v. 49, p. 185-192, fev. 2007.
- SANTOS, RAS et al. Angiotensin(1-7) is na endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. **Proc Natl Acad Sci** , USA, v. 100, p. 8258-8263, fev. 2003.
- ORTIZ, A. et al. Epidemiology, contributors to, and clinical trials of mortality risk in chronic kidney failure. **Lancet** , [S.l.], v. 383, p. 1831-43, maio. 2014.
- SHEMIN, D. et al. Residual renal function and mortality risk in haemodialysis patients. **Am j Kidney Dis** , [S.l.], v. 38, p. 85-89, maio. 2001.
- CHUNG-WEI, Yang et al. Imbalanced plasma ACE and ACE2 level in the uremic patients with cardiovascular diseases and its change during a single hemodialysis session. **Renal Failure** , [S.l.], v. 39, p. 719-728, out. 2017.
- LARAGH, J. et al. Laragh's lessons in pathophysiology and clinical pearls for treating hypertension.. **American journal of hypertension** , [S.l.], v. 14, p. 186-94, out. 2001.
- LOPES, AA et al. Prescription of antihypertensi agentes to haemodialysis patientes: time trends and associations with patients characteristics, country and survival in the DOPPS,. **Nephrol Dial Transplant** , [S.l.], v. 24, p. 2809-2816, 2009.
- ITOH, Y. et al. Effect of renin-angiotensin system inhibitor on residual glomerular filtration rate in hemodialysis patients. **Ther Apher Dial** , [S.l.], v. 16, p. 554-559, jan. 2012.
- KJAERGAARD, Krista Dybtved et al. Angiotensin Blockade and Progressive Loss of Kidney Function in Hemodialysis Patients: A Randomized Controlled Trial. **American Journal of Kidney Diseases** , [S.l.], v. 64, n. 6, p. 892-901, dez. 2014.
- SUZUKI, H. et al. Effect of angiotensin receptor blockers on cardiovascular events in patients undergoing hemodialysis: an open-label randomized controlled trial. . **Am J Kidney Dis** , [S.l.], v. 52, p. 501-506, set. 2008.

- CUSHMAN, DW et al. Design of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids. **Biochemistry** , [S.l.], v. 14, p. 5484-91, set. 1977.
- SOUBRIER, F. et al. Molecular biology of the angiotensin I converting enzyme: II. Structure-function. Gene polymerism and clinical implications. **J Hypertens** , [S.l.], v. 11, p. 599-604, set. 1993.
- ANVISA. Agência nacional de vigilância sanitária: Medicamentos. 1999.
- LEVIN, NW et al. Blood pressure in chronic kidney disease stage 5D-report from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes controversies conference. **Kidney Int** , [S.l.], v. 77, p. 273-284, jan. 2010.
- GIATRAS, I.; LAU, J.; LEVEY, AS. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors on the progression of nondiabetic renal disease: a meta-analysis of randomized trials. Angiotensin-Converting-Enzyme Inhibition and Progressive Renal Disease Study Group. **Ann Intern Med** , [S.l.], v. 125, n. 5, p. 337-45, set. 1997.
- NAVIS, GJ. Enalapril and the kidney. Clinical studies of the renal effects of enalapril in antihypertensive treatment. **Pharm Weekbl Sci** , [S.l.], v. 10, n. 1, p. 337-45, fev. 1988.
- WEBER, MA. Angiotensin II receptor blockers. **American Heart Association** , Philadelphia, v. 10, n. 1, p. 430-36, fev. 2003.
- LARAGH, JH. The renin system in essential, renovascular and adrenocortical hypertension: an overview. **Adv Nephrol Necker Hosp.** , [S.l.], v. 7, p. 157-89, 1977.
- KLEIN, IH et al. Sympathetic activity is increased in polycystic kidney disease and is associated with hypertension. **J Am Soc Nephrol** , [S.l.], v. 12, p. 2427-2433, fev. 2001.
- HAUSBERG, M. et al. Sympathetic nerve activity in end-stage renal disease. **Circulation** , [S.l.], v. 106, p. 1974-1979, fev. 2002.
- VONEND, O.; RUMP, LC; RITZ, E. Sympathetic overactivity--the Cinderella of cardiovascular risk factors in dialysis patients. **Semin Dial** , [S.l.], v. 21, n. 4, p. 326-30, jul. 2008.
- FURGESSON, SB; CHONCHOL, M. Beta-blockade in chronic dialysis patients. **Semin Dial** , [S.l.], v. 21, p. 43-48, 2008.
- CICE, G. et al. Beta-blockade in chronic dialysis patients. **J Am Coll Cardiol** , [S.l.], v. 41, p. 1438-1444, 2003.
- KOVESDY, CP et al. Serum and dialysate potassium concentrations and survival in hemodialysis patients. **Clin J Am Soc Nephrol** , [S.l.], v. 2, p. 999-1007, 2007.
- ISEKI, K. et al. Impact of the initial levels of laboratory variables on survival in chronic dialysis patients. **Am J Kidney Dis** , [S.l.], v. 28, p. 541-548, 1996.

- YUSUF, A. et al. Serum Potassium Levels and Mortality in Hemodialysis Patients: A Retrospective Cohort Study. **Am J Nephrol** , [S.l.], v. 44, p. 179-186, 2016.
- MOVILLI, E. et al. Use of Renin-Angiotensin System Blockers Increases Serum Potassium in Anuric Hemodialysis Patients. **Am J Nephrol** , [S.l.], v. 48, n. 2, p. 79-86, jan. 2018.
- YANG, LY et al. Angiotensin receptor blockers reduce left ventricular hypertrophy in dialysis patients: a meta-analysis. **Am J Med Sci.**, [S.l.], v. 345, n. 1, p. 1-9, 2013.
- WYSOCKI, J.; BATLLE, D. Reduced plasma ACE2 activity in dialysis patients: another piece in the conundrum of factors involved in hypertension and cardiovascular morbidity?. **Nephrol Dial Transplant.**, [S.l.], v. 28, p. 2200-2202, 2013.
- ALI, Q. et al. Estimation of angiotensin peptides in biological samples by LC/MS method. **Anal Methods** , [S.l.], v. 6, n. 1, p. 215-222, 2014.
- MEDINA, A. et al. Changes of blood pressure, renin, and angiotensin after bilateral nephrectomy in patients with chronic renal failure. **Br Med J** , [S.l.], v. 4, p. 694-6, dez. 1972.
- ESTERAS, Raquel et al. Combination use of medicines from two classes of renin?angiotensin system blocking agents: risk of hyperkalemia, hypotension, and impaired renal function.. **Therapeutic Advances in Drug Safety** , [S.l.], v. 6, n. 4, p. 166-176, 2015.
- KRAMKOWSKI, K.; MOGIELNICKI, A.; BUCZKO, W. The physiological significance of the alternative pathways of angiotensin II production. **J Physiol Pharmacol** , [S.l.], v. 57, n. 4, p. 529-39, dez. 2006.
- CHAPPELL, MC et al. Novel aspects of the renal renin-angiotensin system: angiotensin-(1-7), ACE2 and blood pressure regulation. **Contributions to Nephrology** , [S.l.], v. 143, p. 77-89, 2004.
- LINDER, AL; CHARRA, B.; SHERRARD, DJ. Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. **New Engl J Med** , [S.l.], v. 290, p. 697-702, jan. 1974.
- FRIEDLAND, J.; SILVERSTEIN, E. A sensitive fluorimetric assay for serum angiotensin-converting enzyme. **Am J Clin Pathol** , [S.l.], v. 66, p. 416-24, 1976.
- PIQUILLOUD, Y.; REINHARZ, A.; ROTH, M. Studies on the angiotensin converting enzyme with different substrates. **Biochim Biophys Acta** , [S.l.], v. 206, p. 136-42, 1970.
- PEDERSEN, KB et al. Et al. 2011. Species-specific inhibitor sensitivity of angiotensin-converting enzyme 2(ACE2) and its implication for ACE2 activity assays. **Am J ysiol Regul Integr Comp Physiol** , [S.l.], v. 301, p. 1293-1299, 2011.
- ALI, Q. et al. Ali Q, Wu Y, Nag S, Hussain T. Estimation of angiotensin peptides in biological samples by LC/MS method. **Anal Methods** , [S.l.], v. 21, n. 6, p. 215-222, 2014.
- AGARWAL, R.; SINHA, AD. Cardiovascular protection with antihypertensive drugs in dialysis patients: systematic review and meta-analysis. **Hypertension**. 2009 May; **53(5):860-6**. , [S.l.], v. 53, n. 5, p. 860-6, maio. 2009.

HEERSPINK, HJ et al. Effect of lowering blood pressure on cardiovascular events and mortality in patients on dialysis: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **Lancet** , [S.l.], v. 373, p. 1009-15, mar. 2009.



**ANEXO**  
**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**





## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Níveis de Angiotensinas e Atividades da Enzima Conversora de Angiotensina 1 e da Enzima Conversora de Angiotensina 2 de pacientes em hemodiálise

**Pesquisador:** RENATA VITORIANO CORRADI GOMES

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 80737917.8.0000.5108

**Instituição Proponente:** Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

**Patrocinador Principal:** UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.453.600

#### Apresentação do Projeto:

O número de pacientes com Doença renal crônica terminal (DRCT) no Brasil praticamente duplicou na última década. Conforme relatório do Censo Brasileiro de Diálise, cerca de 34 mil pacientes iniciaram tratamento dialítico crônico em 2012. Os pacientes portadores de DRCT têm a mortalidade aumentada, quando comparados à população geral, sendo a doença cardiovascular (DCV), a maior comorbidade associada à DRCT e a principal causa de morte entre estes pacientes. Os mecanismos que contribuem para a patogênese da doença cardiovascular na DRC são complexos e múltiplos, sendo elevação na atividade do Sistema Renina Angiotensina (SRA) um dos mecanismos propostos. O SRA representa o principal controlador da função cardíaca e renal. Estudos mostram que o bloqueio de componentes do SRA, tem importante efeito na diminuição da progressão das doenças cardíacas e renais. Estudos avaliaram o SRA em pacientes submetidos à hemodiálise (Malik & Raizada, 2015). Entretanto, os dados são limitados e conflitantes. O entendimento destes mecanismos pode auxiliar o desenvolvimento de melhores tratamentos, bem como reduzir a progressão da doença e melhorar a sobrevida dos pacientes portadores de DRC.

#### Objetivo da Pesquisa:

##### Objetivo Primário:

Analisar o SRA plasmático dos pacientes DRCT em hemodiálise por meio de um estudo transversal.

**Endereço:** Rodovia MG-367 - Km 583, nº 5000

**Bairro:** Alto da Jacuba

**CEP:** 39.100-000

**UF:** MG **Município:** DIAMANTINA

**Telefone:** (38)3532-1240

**Fax:** (38)3532-1205

**E-mail:** cep@ufvjm.edu.br

**Objetivos Secundários:**

- Analisar os componentes do SRA plasmático em pacientes DRCT em hemodiálise no tempo.
- Comparar os níveis plasmáticos de Ang II, Ang-(1-7), assim como, atividade da ECA 1 e ECA2 plasmática em pacientes com DRCT antes e após uma sessão regular de hemodiálise.
- Comparar os níveis plasmáticos de Ang II em pacientes com DRCT em hemodiálise com 1, 2, 3 e maior ou igual a 4 ano(s) de terapia.
- Comparar os níveis plasmáticos de Ang-(1-7) em pacientes com DRCT em hemodiálise com 1, 2, 3 e maior ou igual a 4 ano(s) de terapia.
- Comparar a atividade da ECA 1 plasmática em pacientes com DRCT em hemodiálise com 1, 2, 3 e maior ou igual a 4 ano(s) de terapia.
- Comparar a atividade da ECA 2 plasmática em pacientes com DRCT em hemodiálise com 1, 2, 3 e maior ou igual a 4 ano(s) de terapia.
- Correlacionar os níveis plasmáticos de Ang II, Ang-(1-7) e atividade da ECA 1 e ECA 2 plasmática com os valores de pressão arterial (média, sistólica e diastólica) antes e após uma sessão regular de hemodiálise em pacientes DRCT.
- Avaliar a relação entre os níveis plasmáticos de Ang II, Ang-(1-7), atividade da ECA 1 e ECA 2 e aspectos clínicos (internações) entre os grupos.
- Estratificar os pacientes com DRCT em hemodiálise de acordo com a classe de fármaco utilizado (para tratamento da doença ou outra associada) e comparar os níveis plasmáticos dos componentes dos SRA analisados, observando se a utilização de diferentes classes de bloqueadores do sistema renina angiotensina (iECA ou BRA) interfere de forma igualitária nos níveis dos componentes do SRA.
- Estratificar os pacientes com DRCT em hemodiálise de acordo com a classe de fármaco utilizado (para tratamento da doença ou outra associada) e comparar os níveis plasmáticos de Ang II.
- Estratificar os pacientes com DRCT em hemodiálise de acordo com a classe de fármaco utilizado (para tratamento da doença ou outra associada) e comparar os níveis plasmáticos de Ang-(1-7).
- Estratificar os pacientes com DRCT em hemodiálise de acordo com a classe de fármaco utilizado (para tratamento da doença ou outra associada) e comparar a atividade da ECA 1 plasmática.
- Estratificar os pacientes com DRCT em hemodiálise de acordo com a classe de fármaco utilizado (para tratamento da doença ou outra associada) e comparar a atividade da ECA 2 plasmática.

**Endereço:** Rodovia MQT 367 - Km 583, nº 5000

**Bairro:** Alto da Jacuba

**CEP:** 39.100-000

**UF:** MG

**Município:** DIAMANTINA

**Telefone:** (38)3532-1240

**Fax:** (38)3532-1200

**E-mail:** cep@ufvjm.edu.br

Continuação do Parecer: 2.453.600

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

As dosagens dos componentes do sistema renina angiotensina serão realizadas em amostra do sangue coletado mensalmente para realização dos exames de rotina da hemodiálise (cabe ressaltar que a coleta do sangue acontecerá independente da pesquisa). A pessoa que irá coletar o sangue dos (as) participantes trabalha no laboratório é habilitada a realizar a coleta e utilizará procedimentos adequados para minimizar os riscos para os (as) participantes. Os riscos, ainda que raros e passageiros, são os desconfortos relacionados à coleta venosa, como, por exemplo, dor localizada, hematoma e infecção.

**Benefícios:**

Este estudo poderá não trazer nenhum benefício direto ao participante, entretanto, contribuirá para o melhor entendimento das doenças cardiovasculares nos pacientes em hemodiálise.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Os sujeitos serão recrutados no Hospital referência em terapia renal substitutiva da cidade de Teófilo Otoni – Minas Gerais. Ao chegar no hospital para a realização de sessão regular de hemodiálise, o sujeito terá a pressão arterial mensurada de forma a obter dados sobre valores da pressão arterial sistólica e diastólica conforme preconizado pela VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. A seguir, antes do início e após o encerramento da sessão de hemodiálise será coletado o sangue, para extração do plasma, no qual serão analisados os níveis de Ang II, Ang-(1-7) e atividade da ECA.

1 e ECA 2. Os paciente serão divididos em grupos conforme o tempo de início da terapia dialítica sendo: sendo grupo 1 composto por pacientes com até 1 ano de terapia dialítica, grupo 2 composto por pacientes que tenham entre 1 e 2 anos de tratamento, grupo 3 composto por pacientes que tenham entre 2 e 3 anos de tratamento e o grupo 4 composto por pacientes que tenham 4 ou mais anos de tratamento. Os pacientes DRCT terão o sangue coletado em dois momentos: antes e após a sessão de hemodiálise. O sangue será coletado em tubos contendo ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) através de agulha inserida na fistula arteriovenosa, sendo logo em seguida centrifugado durante 15 minutos a 1000xg e temperatura aproximada de 4°C. Cabe ressaltar, que para preservar a integridade da amostra este procedimento será realizado no prazo máximo de 30 minutos após a coleta sanguínea. Por fim, o sobrenadante será coletado e estocado a -80°C até o dia de realização dos ensaios bioquímicos. Será utilizado o kit ELISA (do inglês, EnzymeLinked Immunosorbent Assay), que utiliza o Sanduíche-ELISA como

Endereço: Rodovia MG1 367 - Km 583, nº 5000

Bairro: Alto da Jacuba

CEP: 39.100-000

UF: MG

Município: DIAMANTINA

Telefone: (38)3532-1240

Fax: (38)3532-1209

E-mail: cep@ufvjm.edu.br

método. A placa de ELISA fornecida no Kit é pré-revestida com um anticorpo específico (ECA1 ou ECA 2 ou Angio-(1-7) ou Angiot). O padrão e as amostras são adicionados aos poços das placas ELISA e combinados com os anticorpos específicos. Então, um anticorpo de detecção biotinizado específico e um conjugado Avidina – Peroxidase de Rábano (HRP) são adicionados

e incubados. Os componentes livres são lavados. A solução substrato é adicionada. Apenas aqueles que contêm ECA 1 ou ECA2 ou Ang-(1-7) ou Ang II, o anticorpo de detecção biotinizado e conjugado Avidina-HRP farão a ligação específica e por meio de quimioluminescência aparecerão na cor azul. A reação enzimasubstrato

é interrompida através da adição de solução de ácido sulfúrico e a cor torna-se amarelo. A densidade óptica é medida espectrofotometricamente a um comprimento de onda de  $450\text{ nm} \pm 2\text{ nm}$ . O valor da densidade óptica é proporcional à concentração do componente específico do SRA, neste caso, sendo: atividade da ECA 1 e ECA 2, Ang-(1-7) e Ang II. O cálculo desta concentração é realizado através da comparação da densidade óptica das amostras com a curva padrão.

#### Critério de Inclusão:

Serão incluídos 140 indivíduos portadores de Doença renal crônica terminal (DRCT), que será definido como aqueles com  $\text{TFG} < 15\text{ ml/min/1,73m}^2$ , em hemodiálise há mais que 3 meses que sejam maiores de 18 anos independente da classe de fármaco utilizado pelo paciente (para tratamento da doença ou outra associada).

#### Critério de Exclusão:

Serão excluídos os sujeitos com Injúria Renal Aguda (IRA), portadores de Diabetes Mellitus tipo 1 ou tipo 2, Doença Neoplásica conhecida, que estiverem em uso de medicação imunossupressora e portadores de doença cardiovascular (DCV) sintomática nos últimos 3 meses, sendo DCV delimitada como infarto agudo do miocárdio, revascularização coronária, insuficiência cardíaca, AVC ou necessidade de amputação.

Os dados serão apresentados como médias e desvio padrão. Por conseguinte, os dados serão submetidos a um teste para identificar a distribuição amostral, neste caso será o Teste de Kolmogorov-Smirnov. A depender do resultado, serão aplicados testes

paramétricos (teste t de student, ANOVA com post-hoc de Bonferroni e correlação linear de Pearson) ou não paramétricos (teste de Mann-Whitney, Kruskal-Wallis e coeficiente de correlação de postos de Spearman). Para evidenciar a diferença estatística entre os grupos, adotando  $p < 0,05$ .

Endereço: Rodovia MG-367 - Km 583, nº 5000

Bairro: Alto da Jacuba

CEP: 39.100-000

UF: MG

Município: DIAMANTINA

Telefone: (38)3532-1240

Fax: (38)3532-1200

E-mail: cep@ufvjm.edu.br

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Foram devidamente apresentados: o Projeto de Pesquisa, a Folha de Rosto, o Cronograma, e o TCLE com as informações necessárias para os sujeitos da pesquisa, linguagem acessível e contato do CEP/UFVJM atualizado, conforme a Resolução 466/12).

**Recomendações:**

- Segundo a Carta Circular nº. 003/2011/CONEP/CNS, de 21/03/11, há obrigatoriedade de rubrica em todas as páginas do TCLE pelo sujeito de pesquisa ou seu responsável e pelo pesquisador, que deverá também apor sua assinatura na última página do referido termo.

- Relatório final deve ser apresentado ao CEP ao término do estudo em 30/08/2018. Considera-se como antiética a pesquisa descontinuada sem justificativa aceita pelo CEP que a aprovou.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O projeto atende aos preceitos éticos para pesquisas envolvendo seres humanos preconizados na Resolução 466/12 CNS.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_P ROJETO_1043336.pdf	12/12/2017 10:53:44		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CARTAINSTITUICAO.pdf	12/12/2017 10:51:31	RENATA VITORIANO CORRADI GOMES	Aceito
Folha de Rosto	Projeto01.pdf	04/12/2017 05:30:36	RENATA VITORIANO CORRADI GOMES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Plataforma_Brasil_modificado.p df	30/11/2017 07:26:35	RENATA VITORIANO CORRADI GOMES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE.pdf	30/11/2017 07:25:10	RENATA VITORIANO	Aceito

Endereço: Rodovia MG1 367 - Km. 583, nº 5000

Bairro: Alto da Jacuba

CEP: 39.100-000

UF: MG

Município: DIAMANTINA

Telefone: (38)3532-1240

Fax: (38)3532-1200

E-mail: cep@ufvjm.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DOS  
VALES DO JEQUITINHONHA E  
MUCURI



Continuação do Parecer: 2.433.600

Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	30/11/2017 07:25:10	CORRADI GOMES	Aceito
---------------------------	----------	------------------------	---------------	--------

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

DIAMANTINA, 21 de Dezembro de 2017

---

**Assinado por:**  
**Lilian Simone Godoy Fonseca**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Rodovia MG-367 - Km 583, nº 5000

**Bairro:** Alto da Jacuba

**CEP:** 38.100-000

**UF:** MG

**Município:** DIAMANTINA

**Telefone:** (38)3532-1240

**Fax:** (38)3532-1200

**E-mail:** cep@ufvjm.edu.br